

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
**«Санкт-Петербургский государственный университет»**

Институт наук о Земле  
ООП «Почвоведение»  
Кафедра почвоведения и экологии почв

**САЗАНОВА Екатерина Витальевна**  
**Выпускная квалификационная работа**  
**СРАВНЕНИЕ СОСТАВА И СВОЙСТВ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ПОЧВ,**  
**ПОЛУЧЕННЫХ РАЗНЫМИ МЕТОДАМИ**

Научный руководитель:  
д.с.-х.н., проф. А.И. Попов

\_\_\_\_\_

«\_\_»\_\_\_\_\_ 2019

Заведующий кафедрой:  
д.г.н., проф., А.В. Русаков

\_\_\_\_\_

«\_\_»\_\_\_\_\_ 2019

Санкт–Петербург  
2019

## Содержание

Введение.....	4
1. Органическое вещество почв (обзор литературы).....	6
1.1. Специфические органические соединения (гуминовые вещества) и их свойства.....	8
1.2. Неспецифические (индивидуальные) органические соединения .....	17
1.3. Методы извлечения гуминовых веществ.....	28
1.3.1. Общепринятая точка зрения .....	28
1.3.2. Альтернативная точка зрения на природу гуминовых веществ.....	30
2. Объекты и методы исследования .....	33
2.1. Объекты исследования .....	33
2.2. Методы исследования.....	39
2.2.1. Аналитические методы исследования свойств выбранных объектов. ....	39
2.2.2. Методы исследования органической части почв.....	39
3. Результаты исследования .....	44
3.1. Влияние исходной концентрации гумусовых кислот на отношение $C_{ГК}/C_{ФК}$ . .....	44
3.2. Сравнение результатов фракционирования гуминовых веществ, выделенных щелочным пирофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона.....	46
3.3. Сравнение оптических характеристик фракций гуминовых веществ, выделенных щелочным пирофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона.....	51
3.3.1. Сравнение коэффициентов цветности фракций гуминовых веществ, отличающихся агрегативной неустойчивостью при разных значениях водородного показателя.....	51

3.3.2. Сравнение коэффициентов экстинкции фракций гуминовых веществ, отличающихся агрегативной неустойчивостью при разных значениях водородного показателя.....	57
Выводы .....	63
Список литературы .....	65
Приложение .....	77

## **Введение**

При проведении мониторинга почв важную роль играет оценка состояния почвенного органического вещества (ПОВ), в первую очередь свойств гуминовых веществ (ГВ).

В настоящее время существуют разные точки зрения на выделение ГВ из ПОВ. В соответствии с общепринятой точкой зрения щелочная вытяжка представляет собой раствор ГВ, точнее гуминово-подобные вещества (ГПВ). Альтернативная точка зрения состоит в том, что «жесткое» щелочное извлечение активизирует ряд попутных химических реакций, в связи с чем в жидкую фазу переходят не исходные ГВ, а продукты трансформации ПОВ с иными свойствами.

Аналитического сравнения двух этих точек зрения пока не проводилось, в связи с чем наша работа является актуальной и нацелена на сравнение свойств ГВ, выделяемых двумя вытяжками: щелочным пирофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона.

**Рабочая гипотеза.** Нами было сделано предположение, что содержание фракций, отличающихся агрегативной устойчивостью, выделенных щелочным пирофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона, будет разным, а оптические характеристики также будут отличаться друг от друга.

**Цель** — сравнить состав и свойства гуминовых веществ почв, выделенных разными методами.

### **Задачи:**

1) Установить влияние исходной концентрации гумусовых кислот, выделенных ускоренным методом Кононовой-Бельчиковой, на отношение  $C_{ГК}/C_{ФК}$ ,

2) Провести разделение гуминовых веществ, выделенных двумя методами (щелочным пирофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона), на фракции, различающиеся агрегативной устойчивостью в определенном диапазоне кислотности.

3) Охарактеризовать полученные фракции гуминовых веществ на основе коэффициентов цветности и коэффициентов экстинкции.

### **Апробация работы**

Конференция «Докучаевские молодежные чтения 2018» тема доклада: «Влияние концентрации гумусовых кислот на величину  $C_{ГК}/C_{ФК}$  почв лесостепи».

VII Всерос. конф. с междунар. Участием, посвящённая 90-летию со дня рождения проф. Д.С. Орлова и III Междунар. науч. школы «Методы оценки биологической активности гуминовых продуктов» (Москва, 2018), тема доклада: «Поправки к некоторым показателям гумусового состояния почв».

Конференция «Почвоведение: горизонты будущего 2019», тема доклада: «Гломалины в составе органического вещества почв лесостепной зоны».

Автор искренне благодарен своему научному руководителю профессору А.И. Попову за ценные советы и поддержку во время выполнения выпускной квалификационной работы. Автор также благодарит заведующего кафедрой А.В. Русакова за чуткое руководство и контроль, инженеров кафедры почвоведения, своих одногруппников за помощь и отдельно за психологическую поддержку О.В. Романова.

## **1. Органическое вещество почв (обзор литературы).**

Почвенное органическое вещество (ПОВ) является сложной неоднородной системой, динамичность которой определяется поступлением в почву растительных и животных остатков и их трансформацией под воздействием микроорганизмов и различных представителей фауны. Окисление, гидролиз и механическое разрушение органических остатков и их компонентов могут происходить под непосредственным действием ветра, атмосферных осадков, изменений температуры, кислой или щелочной реакции среды (Кононова, 1963).

Почвенное органическое вещество представляет собой сложный комплекс неспецифических (индивидуальных) и специфических (гуминовых веществ и меланинов) органических соединений, а также продуктов взаимодействия между собой и с минеральной частью почвы (Попов, 2004). Функционально-генезисная классификация органического вещества почвы представлена на рисунке 1.

К неспецифическим органическим соединениям относятся постмортальные остатки и экскреты растений и почвенной биоты, продукты биохимической окислительно-восстановительной и гидролитической деструкции ПОВ, а также детрит (механически измельченный органический материал). Эта группа представлена органическими веществами с известным химическим составом (белки, пептиды и аминокислоты, углеводы простые и сложные, водорастворимые органические кислоты, липиды, лигнин и пр.). Образование гуминовых веществ осуществляется в результате сложных процессов превращений остатков растений и педобиоты.

Все компоненты органической составляющей почв взаимосвязаны между собой и в природной нормально функционирующей системе представлены в определенной установившейся пропорции. Общепринято (Кононова, 1963; Орлов, 1974; 1990; Александрова, 1980; Паников и др., 1984; Гришина, 1986),

что органические соединения индивидуальной природы составляют 10–20 %, а группа гумусовых веществ — 80–90 % от общего количества ПОВ.



**Рисунок 1. – Функционально-генезисная классификация органического вещества почвы:**

\* — образование обусловлено деятельностью дождевых червей;

\*\* — образование происходит в основном за счёт сорбции.

Продукты биохимической окислительно-восстановительной и гидролитической деструкции ПОВ представляют собой быстро обновляемый органический материал. Как считается (Кононова, 1963; Орлов, 1974; 1990; Александрова, 1980; Гришина, 1986), наиболее устойчивым к деструкции материалом являются гуминовые вещества и неразложившиеся остатки биоты.

## **1.1. Специфические органические соединения (гуминовые вещества) и их свойства.**

Гуминовые вещества (ГВ) — природные темноокрашенные высокомолекулярные гетерогенные азотсодержащие органические соединения, характеризующиеся отсутствием строгого постоянства химического состава. Гуминовые вещества являются нерегулярными полимерами с разветвленными трёхмерными макромолекулами губчатого строения, состоящими в основном из арилгликопротеидных олигомеров с разной молекулярной массой, которые соединены поливалентными ионами водородными, углерод-углеродными, простыми эфирными и прочими связями (Попов, 2004).

Гуминовые вещества обладают общим принципом молекулярного строения и сходными свойствами. Их молекулы характеризуются наличием фрагментов ароматической природы, а также состоят из набора «сходных частей», что определяет гуминовые вещества как биогеополимеры (Cook., Langford, 1999).

К гуминовым веществам относятся гумусовые (перегнойные) кислоты, гумин (негидролизуемый остаток) и прогуминовые вещества (иначе меланины или пара-гуминовые вещества), а также, возможно, некоторые другие соединения (Орлов, 1990; Орлов и др., 1996).

**Гумусовые кислоты** являются важнейшими представителями гуминовых веществ: гуминовые кислоты, фульвокислоты и гиматомелановые кислоты. Гумусовые кислоты представляют собой комплекс органических соединений коричневого, бурого и желтого цвета, выделяемый из биокосных тел растворами щелочей, нейтральных солей или органическими растворителями (Кононова, 1963; Орлов, 1990; Орлов и др., 1996).

**Гуминовые кислоты (ГК)** определяются как группа гумусовых кислот, которые растворимы в щелочах и нерастворимы в кислотах (ГОСТ 27593-88 (СТ СЭВ 5298-85)). Гуминовые кислоты являются высокомолекулярными азотсодержащими тёмно-бурыми органическими кислотами, которые теряют свою агрегативную устойчивость в сильнокислой водной среде ( $\text{pH} = 1-2$ ),



осаждаясь в виде тёмноокрашенного геля. ГК осаждаются в результате межфазного разделения химически неоднородного образца гуминовых веществ по растворимости отдельных его молекул, когда влияния молекулярной массы накладываются друг на друга и осложнены межмолекулярной ассоциацией (Шинкарев, 2000). В подкисленном растворе гумусовых кислот ( $\text{pH} = 1\text{--}2$ ) гуминовые кислоты теряют свою агрегативную устойчивость, что приводит к их коагуляции и, как следствие, осаждению. При сильном разбавлении (в 20–30 раз) щелочных водных растворов гумусовых кислот, гуминовые кислоты могут находиться в агрегативно устойчивом состоянии в широком диапазоне  $\text{pH}$  (Попов, Бурак, 1998; Роров, 1998; Лунёва, 2005).

Гуминовые кислоты подразделяют на чёрные и бурые в зависимости от проявляемых ими свойств (Орлов, 1974; Пономарёва, Плотникова, 1978; 1980).

Чёрные гуминовые кислоты (ЧГК) обладают интенсивно чёрным цветом и придают биокосным телам очень тёмную окраску. При этом они характеризуются наибольшей степенью гомогенности и наименьшей средневзвешенной относительной молекулярной массой (Орлов, 1974). В состоянии свежееосаждённых гелей ЧГК полностью растворяются в воде, а в сухом состоянии практически нерастворимы в воде. Характерным свойством ЧГК является сильное химическое сродство к ионам кальция, а также устойчивость к микробиологическому разложению (Пономарёва, Плотникова, 1978; 1980).

Бурые гуминовые кислоты (БГК) придают биокосным телам бурую окраску. БГК являются более гетерогенными, чем ЧГК. Они характеризуются рыхлой химической структурой, бóльшей лиофильностью и бóльшим разбросом размером молекул по сравнению с ЧГК, их относительная молекулярная масса больше, а оптическая плотность ниже (в 2 раза) (Орлов, 1974). БГК отличаются от ЧГК растворимостью в воде: в сухом состоянии они лучше растворимы, но свежееосаждённые гели слаборастворимы. В отличие от ЧГК у БГК выражено химическое сродство к ионам алюминия и железа. Соединения БГК с полуторными оксидами практически нерастворимы в воде и

устойчивы к микробиологическому воздействию (Пономарёва, Плотникова, 1978).

К группе **гиматомелановых кислот** относят гумусовые кислоты, растворимые в этаноле (ГОСТ 27593-88 (СТ СЭВ 5298-85)) и характеризующиеся тёмно-красной окраской. Они имеют высокое атомное отношение водорода к углероду, высокую отрицательную степень окисленности, низкие коэффициенты экстинкции, а также высокую интенсивность поглощения в интервале  $1700-1720\text{ см}^{-1}$  (Глебова, 1985). В составе гуминовых веществ биокосных тел гиматомелановые кислоты составляют довольно небольшую долю (Орлов и др., 1996). Однако единая точка зрения на классификационную принадлежность и генезис гиматомелановых кислот отсутствует.

**Фульвокислоты (ФК)** — группа гумусовых кислот, которые растворимы в воде, щелочах и кислотах (ГОСТ 27593-88 (СТ СЭВ 5298-85)) и характеризуются соломенно-жёлтой, густо-оранжевой, а иногда даже тёмно-красной окраской. Обычно к фульвокислотам относят остающиеся в растворе после осаждения ГК килоторастворимые органические вещества (Кононова, 1963; Тюрин, 1965; Орлов, 1974; Александрова, 1980; Пономарёва, Плотникова, 1980). У. Мюллер-Вегенер рассматривает фульвокислоты как вещества с высокой реакционной способностью, которые при гумификации реагируют с гуминовыми кислотами (Müller-Wegener, 1988). Фульвокислоты являются высокомолекулярными азотсодержащими органическими кислотами, как и гуминовые кислоты, но в отличие от последних обладают более светлой окраской, меньшим содержанием углерода, большей окисленностью и большей степенью гидрофильности (Кононова, 1963; Орлов, 1974; Александрова, 1980; Пономарёва, Плотникова, 1980).

Фульвокислоты могут рассматриваться как предшественники и как продукты трансформации гуминовых кислот. Однако, Д.С. Орлов связывает появление фульвокислот с результатом щелочного или кислотного гидролиза органических соединений биокосных тел (Орлов, 1999).

С позиции коллоидной химии, раствор фульвокислот представляет собой свободнодисперсную агрегативно-устойчивую систему ГВ, которая мало зависит от концентрации, величины водородного показателя (рН) и ионной силы раствора (Попов, Бурак, 1998; Роров, 1998; Попов, 2004).

По мнению А.И. Попова, щелочной раствор гумусовых кислот представляет собой устойчивую свободнодисперсную систему с равномерным распределением дисперсной фазы по всему объёму. Разделение гумусовых кислот на группы (гуминовые кислоты, фульвокислоты) связано с проявлением разной агрегативной устойчивости этих соединений в зависимости от концентрации гумусовых кислот, величины водородного показателя (рН) и ионной силы раствора (Попов, Бурак, 1998; Роров, 1998).

**Гумин** (негидролизуемый остаток) представляет собой совокупность гуминовых и фульвокислот, прочно связанных с минералами, а также некоторые неспецифические органические соединения (лигнин, целлюлоза, хитин, углистые частицы и другие). Гумин входит в состав биокосных тел. Гумусовые кислоты гумина при растворении общепринятыми растворителями (щелочами, кислотами) наиболее трудно переходят в раствор (Кононова, 1963; Орлов, 1974; Александрова, 1980; Пономарёва, Плотникова, 1980; Stevenson, 1982). Гумины представляют собой высокоустойчивые агрегатные отдельности, где структурная перегруппировка алифатических биогенетических макромолекул может иметь место одновременно с уплотнением пассивного макромолекулярного материала, адгезионно связанного с активированными минеральными поверхностями (Попов, 2004).

**Меланины (прогуминовые вещества)** — высокомолекулярные тёмноокрашенные пигменты, образующиеся в результате жизнедеятельности прокариотов, в том числе актиномицетов и обитающих в почвах бактерий (Мишустин и др., 1956; Саиз-Гименез, Мартин, 1979; Лях, 1981; Звягинцев, Мирчинк, 1986). Эти пигменты представляют собой сложные гетерополимеры с преобладанием полисопряженных связей, которые отличаются друг от друга набором мономеров и видами связей (Лях, 1981). Меланины имеют

нерегулярную структуру полимеров и разнообразный химический состав (Бриттон, 1986). Многими учеными (Данильчик, 1972; Орлов, 1974; Малама и др., 1975; Храменко, 1975; Звягинцев, Мирчинк, 1986) была выявлена схожесть свойств почвенных гумусовых кислот и тёмноокрашенных меланиновых веществ грибного и бактериального происхождения.

**Элементный состав** гумусовых кислот позволяет судить о степени их конденсированности, «зрелости», как показатель направления их гумификации, для вычисления простейших формул гумусовых кислот и т.п. Гуминовые кислоты содержат (мас. %): углерода — 46–62 %, азота — 3–6 %, водорода — 3–5 % и кислорода — 32–38 %. Фульвокислоты характеризуются следующим содержанием элементов: углерод — 36–44 %, азот — 3–4,5 %, водород — 3–5 %, кислород — 45–50 %, то есть они отличаются от гуминовых кислот более низким содержанием углерода и более высоким содержанием кислорода. Поскольку гумусовые кислоты представляют собой группу высокомолекулярных химических соединений, сходных по составу и свойствам, для них характерны колебания в элементном составе.

Также ГК и ФК могут содержать серу, фосфор и катионы различных металлов. Содержание серы составляет десятые доли процента, иногда до 1–1,2 %, фосфора — сотые и десятые доли процента (Орлов, 1992).

По химической природе гумусовые кислоты являются полимерами ароматических оксиполикарбоновых кислот, в структуре которых присутствуют азотсодержащие и углеводные фрагменты (Перминова, 2000). Основу гуминовых веществ составляют конденсированные ароматические и гетероциклические кольца бензола, фурана, нафталина, антрацена, пиррола, индола, пиридина, тиюфена, хинолина и т. п. Кроме ароматических соединений в гидролизатах гумусовых кислот, выделенных из разнообразных биокосных тел и меланинов, идентифицированы продукты распада белковых соединений, амиды и аминокислоты (Кононова, 1963; Александрова, 1980; Орлов, 1974; 1990).

Между гуминовыми кислотами и фульвокислотами установлено генетическое единство (Кащенко, 1962; Андреева, 1966). Строение молекул ФК имеет сходный характер с молекулами ГК, но наблюдаются и различия. Фульвокислоты в основном состоят из полисахаридов и алкил-углеродных компонентов (Beyer, 1996). При этом доля ароматической составляющей очень невелика. Гуминовые кислоты состоят из ароматических продуктов лигнина, длинных цепочек алкильных фрагментов и лишь небольшого количества видоизменённых полисахаридов. Фульвокислоты гидролизуются полнее, чем гуминовые кислоты, поскольку в молекулах фульвокислот отмечается преобладание алифатических соединений, в том числе аминокислотных и углеводных фрагментов (Александрова, 1980; Гришина, 1986; Орлов, 1990).

Гумин включает в себя фрагменты лигнина и длинные цепочки алифатических полиметиленов. Главным источником ароматических соединений в гумине является лигнин, а в результате полимеризации липидов образуются алкильные фрагменты (Hatcher et al., 1980).

Таким образом, гуминовые вещества в химическом отношении представляют собой нерегулярные гетерополимеры арилгликопротеидной природы (Попов, Чертов, 1993; Попов, 2004).

**Функциональные группы** гуминовых веществ распределены по всей длине их молекул и могут быть присоединены как к ароматическим соединениям, так и к алифатической составляющей (Swift, 1996). Наиболее значимыми из функциональных групп являются кислородсодержащие группы. Отрицательно заряженными функциональными группами являются: спиртовые, фенольные и гидроксихинонные гидроксилы ( $-\text{OH}$ ), альдегидные, кетонные и хинонные карбонилы ( $>\text{C}=\text{O}$ ), карбоксилы ( $-\text{COOH}$ ), метоксилы ( $-\text{O}-\text{CH}_3$ ) и некоторые другие. Положительно заряженные функциональные группы: пептидные ( $-\text{CO}-\text{NH}-$ ), азогруппы ( $-\text{N}=\text{N}-$ ), амины ( $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $>\text{N}-$ ), амиды ( $-\text{CO}-\text{NH}_2$ ), имины ( $>\text{C}=\text{NH}$ ). Иными словами, гумусовые кислоты — полиамфолиты (Попов, 2004). В зависимости от pH среды гуминовые вещества,

как амфолитные соединения, проявляют анионоактивные или катионоактивные свойства.

Для гумусовых кислот характерна гетерогенность, то есть гумусовые кислоты могут обладать неоднородностью состава и свойств отдельных фракций в пределах каждой группы, сохраняя при этом характерный для них общий тип строения (Александрова, 1955; 1970). От гетерогенности химического состава фракций зависит степень разнородности гумусовых кислот по молекулярным массам (Жигунов, Симаков, 1977; Назарова, 1977; Александрова, Назарова, 1978; Александрова, 1980; Ширшова, 1991; Бамбалов и др., 1983; Перминова, 2000).

Многие авторы пишут о **коллоидных свойствах** гуминовых веществ, в том числе Гедройц, 1912; Соколовский, 1919; Брэдфильд, 1936; Маттсон, 1938; Геммерлинг, 1952; Александрова, 1955; Антипов-Каратаев и др., 1956; Ремезов, 1957; Крупский, Лактионов, 1959; Горбунов, 1967; Хан, 1969. Современная коллоидная химия относит диспергированные частицы с размерами 1–1000 нм к коллоидным дисперсиям (Фридрихсберг, 1984; Фролов, 1988). Размер коллоидов ГВ составляет 100–1000 нм, а, соответственно, ГВ попадают в интервал коллоидных частиц (Brady, Weil, 2002). Гуминовые вещества как коллоидные дисперсные системы характеризуются некоторыми специфическими свойствами: электроповерхностными, поверхностно-активными, способностью к самопроизвольному мицеллообразованию.

Электроповерхностные свойства гуминовых веществ проявляются в их сорбционной и ионообменной способностях и объясняются появлением двойного электрического слоя (ДЭС) на поверхности дисперсной фазы. Возникновение двойного электрического слоя происходит спонтанно и обусловлено диссоциацией кислотных функциональных групп гуминовых веществ в водных средах (Гамаюнов, 1974; Лиштван и др., 1976; Лактионов, 1980). ДЭС-мицелла образуется в полярной жидкости частицами дисперсной фазы вместе с двойным электрическим слоем (Горбунов, 1967). Ядро ДЭС-мицеллы представляет собой гидрофобный органический радикал со сложным

химическим составом, который окружён гидрофильными функциональными группами, обуславливающими образование слоя потенциалопределяющих ионов (Лактинов, 1980). Таким образом, ДЭС-мицелла состоит из ядра, слоя потенциалопределяющих ионов, а ионизированные кислотные группы создают отрицательный заряд (Кононова, 1963; Горбунов, 1967; Хан, 1969; Лиштван и др., 1976; Лактионов, 1980). Электроповерхностные свойства играют важную роль в конформационных изменениях и агрегации макроионов гуминовых веществ, а также в коллоидной устойчивости этих специфических органических соединений как дисперсных систем (Tombácz, Rice, 1999).

Поверхностно-активные свойства гуминовых веществ обуславливаются гидрофильностью одних участков молекул ГВ и гидрофобностью (липофильностью) других, а соотношение между этими участками определяет свойства соединений и характер межмолекулярных взаимодействий вещества и среды (Лактионов, 1978; 1980; Орлов, 1990; Милановский и др., 1993; Swift, 1996). Дифильный (амфифильный) характер органических веществ позволяет им адсорбироваться на поверхности раздела двух фаз и образовывать мономолекулярный слой, вследствие чего они могут снижать поверхностное натяжение (Фридрихсберг, 1984; Фролов, 1988; Слесарев, 2001). Гидрофильные части молекул ориентируются к растворителю и обеспечивают резкое снижение поверхностного натяжения до значений, меньших критического. На границе двух несмешивающихся жидкостей, например, воды и какого-либо неполярного органического соединения, полярные части молекул поверхностно-активных веществ будут обращены в водную среду, а неполярные радикалы — в органическую, точнее жироподобную (Фролов, 1988). Агрегативную устойчивость почвенной дисперсной системы можно связать с действием органического вещества, аналогичного действию поверхностно-активных веществ (Чухров, 1936).

Соотношения между гидрофильными (например, полярными группами) и липофильными (углеродными радикалами) фрагментами поверхностно-активных веществ определяют гидрофильно-липофильный баланс.

Гидрофильно-липофильный баланс обуславливает пространственную организацию, разнообразие функциональных свойств и растворимость амфифильной молекулы (Кольман, Рем, 2000).

Для гуминовых веществ характерна способность к самопроизвольному мицеллообразованию (образованию структурированных мицелл), которое возникает при подкислении щелочного раствора содержащего или одни ГК, или смесь ГК с ФК (при концентрации гумусовых кислот не менее 0,1 мг/мл по углероду) (Попов, Бурак, 1998). При этом самопроизвольные процессы конформации и укрупнения частиц приводят к выпадению в осадок наиболее агрегативно неустойчивой части ГВ — ГК. При низких значениях кислотности ( $\text{pH} = 1-2$ ) гуминовые кислоты ассоциируются в агрегаты (Кононова, 1963). В. Рочусом (Rochus, 1983), при использовании ультрафильтрации, было показано, что изменение величины водородного показателя ( $\text{pH}$ ) раствора с 4 до 12 приводило к уменьшению доли наиболее высокомолекулярной фракции торфяных ГК. При уменьшении значений  $\text{pH}$  раствора существенно увеличивается агрегация ГК в результате образования водородных связей или подавления отталкивания между структурными единицами ГК (Steelink, 1999; Tombácz, Rice, 1999). Способностью к мицеллообразованию обладают не все поверхностно-активные вещества, а только те, которые имеют оптимальную величину гидрофильно-липофильного баланса для данного растворителя (Слесарев, 2001).



## 1.2. Неспецифические (индивидуальные) органические соединения

Неспецифические (индивидуальные) органические соединения поступают в почву в виде продуктов жизнедеятельности живых организмов после их отмирания. Эти соединения могут присутствовать в почве как в свободном виде, так и в составе более сложных веществ биогенного происхождения, но не являются гуминовыми веществами (Орлов, 1985). Содержание этих соединений в почве колеблется от нескольких до десятков процентов. Индивидуальные органические соединения включают в себя как составные части живых организмов и их выделений, так и продукты трансформации экскретов и отмерших остатков биоты (Flaig, 1971).

В результате протекания определенных химических реакций в почве высокомолекулярные органические соединения могут преобразовываться в низкомолекулярные соединения вторичного происхождения. Таким образом в почве образуются следующие неспецифические органические соединения: фенольные соединения, аминокислоты, алифатические кислоты, а также олиго- и моносахариды (включая аминосахара и уроновые кислоты). Эти соединения могут являться продуктами метаболизма растений и биоты, продуктами деструкции высокомолекулярных органических соединений (в том числе гуминовых веществ) и продуктами химических реакций, происходящих в почве (Ваксман, 1937; Тюрин, 1965; Кононова, 1963; Flaig, 1971; Орлов, 1974; Greenland, Oades, 1975; Lowe, 1978; Александрова, 1980; Паников и др., 1984).

Индивидуальное органическое вещество почвы представлено следующими соединениями: лигнин и фенольные соединения, белки и аминокислоты, углеводы, в том числе: полисахариды (целлюлоза, гемицеллюлоза, крахмал, гликоген, пектиновые вещества, мукополисахариды, хитин и др.), олиго- и моносахариды, а также липиды, пигменты и др. (Кононова, 1963; Flaig, 1971; Greenland, Oades, 1975; Kowalenko, 1978; Lowe, 1978; Александрова, 1980; Паников и др., 1984; Орлов, 1985; 1990).

**Лигнин** представляет из себя сложный природный полимер ароматической природы, который является наиболее устойчивым из индивидуальных органических соединений к биологическому разложению в почве (Кононова, 1963; Александрова, 1980; Орлов, 1985; Держинская, 1991).

Элементный состав лигнинов представлен следующими соединениями: углерод — 60–64 %, водород ~ 6 %, кислород — 29–33 %, также в небольших количествах присутствует азот — 0,6–1,5 % (Александрова, 1980). При гумификации лигнина содержание углерода постепенно уменьшается до 59–60 %, а содержание водорода — до 5,5–6,0 %. Также происходит изменение количества карбоксильных, гидроксильных и азотсодержащих функциональных групп, и уменьшается содержание метоксильных групп. (Орлов, 1985)

Химическое строение лигнина обусловлено основными структурными звеньями — тремя спиртами и их остатками: *n*-кумаровый, конифериловый и синаповый, которые имеют фенилпропановую природу (Сарканен и др., 1975). С.М. Манская и Л.А. Кодина (1975) утверждают, что преобладающие структурные звенья зависят от типа растений: травянистые растения имеют в основном *n*-кумариловые структуры, древесина хвойных пород — конифериловые, а в лиственных преобладают синапиловые.

**Фенольные соединения** являются производными оксибензолов и относятся к числу ароматических и гидроароматических соединений. Основные простые фенольные соединения: оксибензолы и их производные, фенолкарбоновые кислоты, производные фенил пропана, кумарины, хромоны, бензофеноны, ксантоны, стильбены, ауроны, халконы, флавоноиды, хиноны (бензахиноны, нафтахиноны, антрахиноны), лигнаны, трополоны (Flaig, 1971; Александрова, 1980). Фенольные соединения могут образовываться при разрушении лигнина или в результате микробного синтеза (Flaig, 1988). Фенольные вещества могут быть подвержены быстрому окислению, особенно на солнечном свете с последующей конденсацией окисленных продуктов и образованием меланиноподобных веществ (Орлов, 1985).

**Белки** — высокомолекулярные соединения, полимеры, мономерами которых являются аминокислоты, находятся во всех живых организмах (Паников и др., 1984). Для белков характерен следующий элементный состав: углерода — 48–55 %, водорода — 6–7 %, кислорода — 19–27 %, азота — 16–20 %, серы ~ 2 %. Белки состоят из остатков 20  $\alpha$ -аминокислот и обладают кислотно-основными функциями благодаря наличию свободных концевых  $\alpha$ -аминогрупп и карбоксильной группы. Доля белков в составе растений различна: больше всего белков содержится в бобовых растениях (10–20 %) и меньше всего — в древесине лиственных и хвойных пород (0,5–1 %), а в бактериях содержится около 40–70 %.

Белки делятся на две группы: простые (протеины), которые состоят только из аминокислот, и сложные (протеиды), в молекулах которых протеины связаны с другими органическими или неорганическими соединениями. Существуют липопротеиды (соединены с липидами), гликопротеиды (с углеводами), нуклеопротеиды (с нуклеотидами). После отмирания организмов белки довольно быстро подвергаются биохимическим превращениям. В результате разрушения первичных белков (вплоть до аминокислот, которые легко гумифицируются и минерализуются) синтезируются вторичные, входящие в состав микроорганизмов. (Flaig, 1971; Александрова, 1980). К белкам также принадлежит группа ферментов.

**Ферменты** — высокомолекулярные белковые соединения, которые являются катализаторами химических реакций и ускоряют биохимические процессы и процессы превращения органических веществ в почве. Ферменты в почве могут быть как свободными внеклеточными, так и иммобилизованными на поверхности твердой фазы почвы. Иммобилизованные ферменты могут длительно сохранять свою активность благодаря собственной стабилизации. Ферменты играют важную роль в почве, так как участвуют в основных почвообразовательных процессах: переводе в доступное состояние для растений остатков растений и биоты, а также органических веществ индивидуального ряда в результате гидролиза этих соединений; синтезе и

распаде гуминовых веществ и окислительно-восстановительных реакциях (Купревич, Щербакова, 1966; Купревич, 1974; Хазиев, 2005; Звягинцев, 1978; Щербакова, 1983; Абрамян, 1992; Казеев и др., 2003).

Ферменты делятся на простые (протеины) и сложные холоферменты (протеиды), которые состоят из апофермента и кофермента. Апофермент представляет собой белковую часть молекулы фермента и обуславливает специфичность фермента, он неустойчив к температурным воздействиям. Кофермент является небелковой частью, представлен простетической группой, которая и обеспечивает каталитическую активность фермента. В качестве кофермента могут выступать многие витамины и минеральные вещества. В зависимости от природы катализируемых реакций и субстрата ферменты классифицируют на: оксиредуктазы (реакции окисления и восстановления), гидролазы (гидролиз сложных органических веществ), трансферазы (перенос химических групп с одних молекул на другие), лиазы (присоединение или отрыв химических групп по двойным связям), лигазы (присоединение двух молекул друг к другу), изомеразы (изомеризация молекул) (Мусил и др., 1984; Биологический ..., 1986; Слесарев, 2001; Войтович и др., 2002).

**Аминокислоты** — органические соединения, которые содержат два типа функциональных групп: карбоксильную и аминогруппу. В состав белков и пептидов входят только 20  $\alpha$ -аминокислот, хотя всего в природных объектах обнаружено около 300 аминокислот. В разных типах почв было найдено 18–19 свободных аминокислот, содержание которых составляло от 10 до 76 мг/кг (Умаров, Асеева, 1971). В зависимости от времени года, гидротермических условий, типа почвы и характера агротехнических приемов количественный и качественный состав свободных аминокислот существенно меняется. (Паников и др., 1984). В почве находятся следующие аминокислоты: одноосновные моноаминокислоты — аланин, валин, глицин, изолейцин, лейцин, серин, треонин; одноосновные диаминокислоты — аргинин, лизин; двухосновные моноаминокислоты — аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота; ароматические — тирозин, фенилаланин; гетероциклические — гистидин,

пролин; серосодержащие — метионин, цистеин (Bremner, 1955; Кононова, 1963; Flaig, 1971; Kowalenko, 1978; Орлов, 1974; 1985; 1990).

**Углеводы** — органические вещества, содержащие карбонильную и несколько карбоксильных групп. Общее содержание углеводовных компонентов в почвах колеблется от 5–7 до 25–30% от общего содержания углерода. В почвах представлены все классы углеводов: моносахариды, олигосахариды и полисахариды, последние из которых являются наиболее устойчивыми (Орлов, 1992).

**Моносахариды** — группа производных многоатомных спиртов, которые содержат несколько гидроксильных групп и карбонильную (альдегидную или кетонную) группу, поэтому для них свойственны разнообразные виды изомерии. Известно несколько сотен различных по структуре и стереохимии моносахаридов. Один из простейших многоатомных спиртов — глицерин (Александрова, 1980; Кретович, 1980; Биологический ..., 1986; Слесарев, 2001). Количество свободных моносахаридов в почвенном органическом веществе невелико (менее 1 %) (Flaig, 1971). Кроме альдегидной или кетонной групп в молекулы моносахаридов могут входить карбоксильные группы (сахарные кислоты, например, уроновые) или аминокгруппы (аминосахара) (Кононова, 1963; Орлов, 1974; 1985; Greenland, Oades, 1975; Lowe, 1978; Александрова, 1980; Кретович, 1980; Слесарев, 2001). Содержание уроновых кислот в почве — 1–5 % от органического материала (Flaig, 1971). В составе почвенных углеводов всего выделено 27 моно- и ди-*O*-метилмоносахаридов (Ogner, 1980b).

**Олигосахариды** — относительно низкомолекулярные полисахариды, молекулы которых содержат от 2 до 10 моносахаридов (Flaig, 1971). К олигосахаридам относятся и дисахариды. Дисахариды — *O*-гликозиды, т. к. соединение двух молекул моносахаридов происходит за счёт гликозидного гидроксила одного моносахарида и одной из гидроксильных групп другого (Кретович, 1980; Слесарев, 2001). В почве олигосахариды представлены целлотриозой, а дисахариды — сахарозой, целлобиозой (целлозой) и гентиобиозой (амигдалозой) (Flaig, 1971).

Важнейшими **полисахаридами** являются: целлюлоза, гемицеллюлозы, крахмал, гликоген, пектиновые вещества, мукополисахариды, хитин и проч. (Greenland, Oades, 1975; Lowe, 1978; Александрова, 1980; Кретович, 1980). Основными источниками почвенных полисахаридов являются высшие растения, которые разрушает почвенная биота. При этом почвенные микроорганизмы и грибы сами способны синтезировать высокомолекулярные сахара (Flaig, 1971). Полисахариды биохимически окисляются до карбоновых, кетонных и/или уроновых кислот (Martin, Haider, 1971; Beyer, 1996).

Основным опорным полисахаридом клеточных стенок растений является целлюлоза, которую также называют клетчаткой. Молекулы целлюлозы представляют собой длинные полимерные цепи, состоящие из 1 400–10 000 остатков  $\beta$ -D-глюкозы и способные к образованию высокоупорядоченных надмолекулярных структур (Кретович, 1980; Паников и др., 1984; Биологический ..., 1986). В процентном соотношении целлюлоза составляет более половины сухой массы растений. Количество целлюлозы составляет 8–14 % от общего содержания углеводов в почве и в ней содержится 65–82 % глюкозы (Flaig, 1971).

Вместе с целлюлозой в состав клеточной стенки могут входить гемицеллюлозы, из которых при гидролизе образуются манноза, галактоза, арабиноза или ксилоза. Общее содержание гемицеллюлоз в растениях может достигать 40 %, однако, они имеют менее упорядоченную надмолекулярную структуру, чем целлюлоза. Гемицеллюлозы поступают в почву вместе с растительными остатками в довольно больших количествах (Greenland, Oades, 1975; Lowe, 1978).

Основной резервный полисахарид растений – крахмал. Крахмальные зёрна состоят из высокомолекулярных полисахаридов (96,1–97,6 %), минеральных веществ (от 0,2 до 0,7 %), а также высокомолекулярных жирных кислот — пальмитиновой, стеариновой и др. (0,6 %) (Кретович, 1980; Биологический ..., 1986).

Структурным и функциональным аналогом амилопектиновой фракции крахмала является гликоген — разветвленный полисахарид, молекулы которого построены из остатков  $\alpha$ -D-глюкозы.

Пектиновые вещества — высокомолекулярные соединения растений углеводной природы, кислые полисахариды с молекулярной массой 25–50 кДа. Основа молекул — цепи из 1→4 связанных остатков  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты или её метилового эфира, часто содержащие боковые цепочки, построенные из остатков нейтральных полисахаридов (D-галактозы, L-арабинозы, D-ксилозы, L-рамнозы) (Кретович, 1980; Биологический ..., 1986; Слесарев, 2001). Эти вещества могут поступать в почву в составе так называемого слизегеля, окружающего корневые волоски растений (Паников и др., 1984).

Мукополисахариды (от лат. *mucus* — слизь + полисахариды) — сложные биополимеры желеподобного вида, молекулы которых состоят из белкового компонента и ковалентно присоединенных к нему углеводных цепей. На долю углеводной части приходится 70–80 % массы. Мукополисахариды содержат большое число повторяющихся дисахаридных звеньев из гексуроновых кислот и аминсахаров. Они обладают большой вязкостью и бактерицидными свойствами, а также могут входить в состав слизеподобного геля корневых волосков (Паников и др., 1984; Биологический ..., 1986; Слесарев, 2001).

Хитин (высокомолекулярные аминсахара) — линейный сополимер N-ацетил-D-глюкозамина, соединённый  $\beta$ -1,4-гликозидными связями. Это опорный гетерополисахарид беспозвоночных, а также компонент клеточной стенки грибов и некоторых зелёных водорослей. Молекулы хитина образуют высокоупорядоченные надмолекулярные структуры (Биологический ..., 1986). Из-за наличия N-ацетильной группы межмолекулярные связи между неразветвлёнными полисахаридными цепями в хитине более прочны, чем в целлюлозе (Слесарев, 2001).

**Липиды** представлены жирами и жироподобными веществами, которые являются гидрофобными и нерастворимыми в воде, но растворимыми в

органических растворителях. По способности к гидролизу липиды подразделяют на две группы: омыляемые (простые и сложные) и неомыляемые. Простые омыляемые липиды при гидролизе образуют спирты и карбоновые кислоты, к ним относят жиры и воски. Сложные омыляемые липиды при гидролизе образуют три и более компонентов и включают в себя фосфолипиды, сфинголипиды и гликолипиды. Неомыляемые липиды — это стероиды, жирорастворимые витамины и простагландины (Слесарев, 2001).

Органические растворители могут извлекать также из почв углеводороды, в том числе полициклические, различные органические кислоты, включая феноксикислоты, пигменты и соединения других классов. Доля липидов в составе органического вещества минеральных горизонтов почв составляет 2–4 – 10–12 % от  $C_{\text{общ}}$ , а в органогенных горизонтах и торфах — 15–20 % (Орлов, 1992). Накопление липидов в гумусовых горизонтах почв находится в обратной зависимости от степени гумификации и содержания гумусовых кислот (Пономарёва, Плотникова, 1980).

**Пигменты** — группа окрашенных веществ растительного и микробного происхождения, которые хорошо растворимы в органических растворителях и включают в себя оксиантрахиноны и родственные им вещества, меланины, хлорофиллоподобные и гемоподобные соединения (Кононова, 1963; Hoyt, 1971; Фридланд и др., 1976; Александрова, 1980; Орлов, 1992; Зайдельман, Данилова, 1989). К оксиантрахинонам и их производным относятся хризоталунин, хриазин и скирин, а также так «зелёная гуминовая кислота» ( $P_g$ ) — 4,9-диоксиперилен-3,10-хинон (Орлов, 1974). Зелёный пигмент ( $P_g$ ), количество которого может достигать 10 % от содержания гуминовых кислот, продуцируется микроскопическими грибами и встречается в почвах различных зон.  $P_g$ -фракция обычно приурочена к почвам, испытывающим хотя бы временное избыточное увлажнение (Kumada, Hurst, 1967; Вольнова, Мирчинк, 1972; Орлов, 1968; 1985; 1990; Зайдельман, Данилова, 1989; и др.). Абсолютное содержание хлорофиллоподобных соединений в почвах невелико — от 0,03 до 4,00 мкг/г почвы (Фридланд, 1976). При этом максимальное количество этих



соединений было обнаружено в почве под лесной растительностью, минимальное — в почвах лугов (Sanger, 1971).

**Алифатические кислоты** — органические кислоты, имеющие алифатическое строение. В почве встречаются следующие алифатические кислоты: малоновая, уксусная, малеиновая, яблочная, щавелевая, муравьиная, масляная, фумаровая, пропионовая, валериановая, молочная, гликолевая, лимонная и др. Установлен следующий ряд накопления органических кислот: уксусная > масляная > муравьиная > фумаровая, пропионовая, валериановая, щавелевая и молочная. Количество алифатических кислот зависит от условий в почве, содержание, например, наиболее часто встречаемых муравьиной и уксусной кислот, колеблется от 0,5 до 0,9 и от 0,7 до 1,0 мэкв./100 г почвы, соответственно (Flaig, 1971). Период полураспада в почве аминокислот, органических кислот, моно- и дисахаридов — от нескольких часов до нескольких суток (Паников и др., 1984).

**Кероген** — часть рассеянного органического вещества осадочных пород (низких стадий преобразования), нерастворимая в органических растворителях, но растворима в щелочных растворах (Богородская, 2005). Кероген представляет собой ассоциацию разнородных детритных и тонкодисперсных органических остатков, преобразованных большей частью в анаэробных условиях. Структуру керогена представляют в виде макромолекулы, которая состоит из конденсированных карбоциклических ядер, соединённых гетероатомными связями или алифатическими цепочками (Бушнев, Бурдельная, 2010). Элементный состав керогена сапропелевого типа: С — 64–93 %; Н — 6–10 %; О — 0–25 %; N — 0,1–4,0 %; S — 0,1–8,0 %, гумусово-сапропелевого типа: С — 64–96 %; Н — 1–5 %; О — 3–25 %; N — 0,1–2,0 %; S — 0,1–3,0 %. При метаморфизме увеличивается доля углерода и снижается доля водорода и гетероэлементов.

**Гидрофобины** — амфифильные белки, которые встречаются исключительно в мицелиальных грибах и состоят примерно из  $100 \pm 25$  аминокислотных остатков. Структура гидрофобинов представлена двумя

структурными доменами, каждый из которых содержит четыре остатка цистеина, образующих внутримолекулярные дисульфидные мостики. Гидрофобины оказались совершенно новым классом белков, обладающим своеобразными физико-химическими свойствами, поэтому потребовалось применение новых методов для их выделения, нетипичных для экстракции белков. Обилие гидрофобных аминокислотных остатков и связь их с клеточной стенкой грибов и привели к названию «гидрофобины» (Белозерская, 2001; Колесников, Ларионов, 2014).

Гидрофобины относятся к амфифилам, поскольку обладают как гидрофильными, так и гидрофобными аминокислотными остатками. Они способны самособираться в амфипатическую мембрану на границе раздела гидрофобной и гидрофильной фаз (Wösten, Vocht, 2000). Гидрофобины подразделяют на два класса: гидрофобины I класса собираются в агрегаты, которые стабильны к действию детергентов и этанола, но могут быть диссоциированы только высококонцентрированными кислотами (муравьиная, трифторуксусная), а гидрофобины II класса могут диссоциировать до мономеров под действием этанола (60 %) или раствора додецилсульфата натрия (Wösten, Vries, 1993; Колесников, Ларионов, 2014).

**Гломалин** — гликопротеин, представляющий собой сложное органическое гидрофобное соединение красного цвета, которое способно связывать железо и характеризуется иммунореакционными свойствами, а также имеет общие черты с гидрофобинами и гуминовыми веществами (Wright, Upadhyaya, 1998; Nichols, 2003). С позиции биохимии, гликопротеины — белки, содержащие углеводный компонент (гликан), который ковалентно связан с полипептидной основой. Углеводы, как правило, присоединены к белку либо *N*-гликозидной связью к амидному азоту аспарагина, либо *O*-гликозидной связью к гидроксигруппе остатка серина, треонина, гидроксилизина. Доля углеводов в них варьирует от 15 до 20 % по массе, не содержат уроновых кислот, углеводные цепи содержат не более 15 звеньев, при этом углеводы имеют нерегулярное строение.

В составе ПОВ гломалин присутствует в большом количестве (как правило, 2–15 мг/г и даже больше — 60 мг/г) в разнообразных почвах (как в кислых и известковых, так и в почвах сенокосных и пахотных угодий) (Wright, Upadhyaya, 1998). Высокое содержание гломалина в основном обусловлено избытком гифов арбускулярных микоризных грибов в почве и медленной скоростью деструкции этого гликопротеина — от 7–42 до 100 лет (Rillig, 2004; Steinberg, Rillig, 2003). Содержание гломалина в почве может составлять 1–5 % от общего количества углерода органических соединений в почве.

Как было установлено (Schindler, Mercer, 2007), высокое содержание углерода ароматических (42–49 %) и карбоксильных (24–30 %) соединений в составе гломалина, а также низкое содержание алифатических соединений (4–11 %) и углерода углеводов (4–16 %), свидетельствует о том, что гломалин не имеет сходства с типичным гликопротеидом. При этом фактически ЯМР-спектры гломалина сильно напоминали таковые ГК. Иначе говоря, существующие в настоящее время методы извлечения гломалина, из-за их подобия методу, используемому при извлечении ГК, способствуют извлечению обоих материалов.

### **1.3. Методы извлечения гуминовых веществ**

#### **1.3.1. Общепринятая точка зрения**

В настоящее время существует множество методов изучения качественного состава гумуса, в основе которых лежит методика И.В. Тюрина (1965). Данный метод основан на выделении в раствор различных групп и фракций гумусовых кислот в зависимости от их природы и связи с минеральными компонентами почвы. Для извлечения гумусовых кислот из почв применяются растворы гидроксида натрия. Способность ГК терять свою агрегативную устойчивость (т. е. выпадать в осадок) в растворах минеральных кислот лежит в основе отделения гуминовых кислот от фульвокислот (Попов, 2004).

На основе классической схемы фракционирования гумуса был разработан модифицированный и усовершенствованный метод определения фракционно-группового состава гумуса В.В. Пономарёвой и Т.А. Плотниковой. (1968). Отличие от стандартного метода И.В. Тюрина заключается в том, что длительная поочередная обработка почвы кислотой и щелочью для выделения прочно связанных гумусовых веществ заменена однократной обработкой 0,02 н. NaOH при нагревании (Орлова, 2007).

М.М. Кононовой и Н.П. Бельчиковой (1961) был разработан экспресс-метод, позволяющий быстро выделять гумусовые кислоты (1 и 2 фракций) щелочным раствором пиррофосфата натрия. Этот метод может быть дополнен двумя параллельными вытяжками: щелочной, которая позволяет извлекать ГК-1 и ФК-(1+1a), и кислотной — для выделения ФК-1a (Пономарёва, Плотникова, 1980).

Извлечение гумусовых кислот из почвы заключается в расщеплении связей гумусовых кислот с минеральными компонентами почвы и растворении гумусовых кислот. Основными реагентами для извлечения гуминовых веществ из почвы в настоящее время являются водные растворы гидроксидов щелочей,

преимущественно натрия (Кононова, 1963; Александрова, 1980; Пономарёва, Плотникова, 1980; Орлов и др. 1991; Орлова, 2007).

Степень выделения гумусовых кислот из почв значительно зависит от применяемого реагента (рН раствора и его концентрации — ионной силы). Оптимальной концентрацией для выделения гуминовых веществ из почвы признан раствор 0,1 н NaOH, поскольку при данной концентрации происходит полное насыщение натрием кислотных функциональных групп (Плотникова, 1971; Орлова, 2007).

Как показали в своих исследованиях М.М. Кононова и Н.П. Бельчикова (1961), количество гумусовых кислот, выделяемых непосредственно сильнощелочным раствором пиррофосфата натрия, равно их количеству при взаимодействии с раствором гидроксида натрия после кислотной обработки. Поэтому раствор пиррофосфата натрия является оптимальным, так как способен извлекать гумусовые кислоты, связанные с минеральными компонентами, без предварительного кислотного гидролиза (Орлова, 2007).

### **1.3.2. Альтернативная точка зрения на природу гуминовых веществ.**

В настоящее время М. Клебер и И. Лехман (Kleber, Lehmann, 2019) придерживаются иной точки зрения процесса выделения гуминовых веществ из почв. Данные авторы утверждают, что щелочное извлечение не позволяет распознать химический состав исходных органических соединений. Это объясняется тем, что данный метод не может выявить различий между веществами, которые подверглись гумификации (гуминовыми веществами), и индивидуальными органическими соединениями (негуминовые вещества), содержащими ионогенные функциональные группы, наличие которых связано с другими причинами, например, с окислительной деполимеризацией.

М. Клебер и И. Лехман (Kleber, Lehmann, 2019), рассмотрев становление парадигмы гуминовых веществ и влияние разных авторов на ее развитие, полагают, что уже к началу XXI века ученые, занимающиеся исследованиями органического вещества почв, начинали отказываться от терминологии, связанной с парадигмой гуминовых веществ. Некоторые исследователи не отказывались, а переопределяли гуминовые вещества без указания специфической функциональности, как фракции органического вещества, состав которых остаётся неизвестным. Все эти ученые руководствовались тремя основными идеями. Во-первых, щелочное извлечение не отделяет гуминовые вещества от негуминовых веществ (функциональных биомолекул, продуктов их частичного разложения и от микробных остатков). Во-вторых, связь между биологическим функционированием органического вещества в почвах и результатами щелочного извлечения из нее отсутствует. В-третьих, соединения, выделяемые щелочью, не обладают теми свойствами, которые они должны были бы приобрести в ходе процесса вторичного синтеза в естественной среде и/или гумификации (Kleber, Lehmann, 2019).

Поскольку щелочное извлечение максимально при обработке растворителем с рН, значения которого выше значений рКа функциональных групп, то обработка раствором с рН = 13 будет ионизировать многие группы,

которые не будут ионизированы при нормальном pH почвы (например, фенольные гидроксилы). Возникает возможность потенциальных реакций между ионизированными таким образом группами и минеральными и органическими компонентами почвы, реакции с которыми при обычных значениях pH, преобладающих в естественных почвенных системах, не смогли бы произойти (Kleber, Lehmann, 2019).

Степень щелочного извлечения зависит от содержания фенольных и карбоксильных групп. Поэтому, чем больше разлагается исходный органический материал, поступивший в почву, тем больше в нем содержится кислородсодержащих функциональных групп и тем более значительным будет результат щелочного выделения. Таким образом, в процессе щелочного извлечения будут ионизированы все химически известные негуминовые вещества: углеводы, жирные кислоты, карбоновые кислоты, фенолы (Kleber, Lehmann, 2019).

Гуминовые вещества не могут быть однозначно охарактеризованы, если используемый аналитический метод не предполагает достоверного отделения гуминовых веществ от негуминовых. Первым шагом в любом исследовании гуминовых веществ должно являться отделение этих веществ, образованных вторичными синтезом в почве, от всех других компонентов почвенного органического вещества (Wershaw, 2000).

В основе некоторых определений лежит концепция особо устойчивых гуминовых веществ. Впервые критическое рассмотрение данной концепции было предложено С.А. Ваксманом (1936), который сделал выводы, основываясь на наблюдениях за потерями углерода при различных обработках почв степной зоны Америки. С.А. Ваксман утверждал, что «именно природа почвенного гумуса, а не его общая концентрация, в первую очередь связана с продуктивностью почвы»; «гумус не разлагается в почве как нечто целое, некоторые компоненты гумуса разлагаются быстрее, чем другие»; «может возникнуть соблазн отдельно рассматривать существование стабильных и нестабильных форм гумуса». Для С.А. Ваксмана классификация гумуса как

нестабильного образования носит условный характер, поскольку только когда материал помещается «в благоприятные условия» для разложения, наступает постулируемая стабильность.

М. Клебер и И. Лехман (Kleber, Lehmann, 2019) предлагают некоторые рекомендации. Во-первых, не путать материалы, полученные путем щелочного извлечения, с продуктами гипотетического процесса гумификации. Во-вторых, определить щелочное извлечение как практическую процедуру выделения большой доли органического вещества из почвы, которая имеет большое практическое значение, но никогда не будет полностью эффективной. В-третьих, необходимо утвердить такую терминологию, которая могла бы отделять процесс, происходящий в почве, от ее свойств, что поможет в будущем более гибко адаптироваться к новым данным, а также прийти к согласию в определениях гумуса. Авторы предлагают использовать термин органическое вещество почв, включая живые, мертвые и разлагающийся органический материал. Почвенное органическое вещество непрерывно разрушается, создавая континуум более или менее разложившихся материалов, как описано в модели Soil Continuum Model (Lehmann, Kleber, 2015). Данный образованный континуум охватывает структуры от больших биомакромолекул до крошечных карбоновых кислот, и даже до углекислого газа и бикарбонат-ионов.

В заключении М. Клебер и И. Лехман (Lehmann, Kleber, 2019) отмечают, что окончательное доказательство или опровержение вторичного синтеза возможно только при условии применения отличных от щелочного извлечения методов изучения.



## **2. Объекты и методы исследования**

### **2.1. Объекты исследования**

Объектами исследования были выбраны гумусовые горизонты почв лесостепи Белгородской области:

- 1) серо-гумусовый (AY) и элювиально-гумусовый (AEL) горизонты серой почвы (СП),
- 2) тёмно-гумусовые горизонты (AU1 и AU2) и второй гумусовый горизонт (BEL[hh] ) тёмно-серой почвы (ТСП),
- 3) тёмно-гумусовые горизонты (AU1 и AU2) чернозёма миграционно-мицелярного (ЧММ),
- 4) пахотные горизонты (PU1 и PU2) агрочернозёма миграционно-мицелярного (АЧММ).

Для более объективного сравнения двух методов мы взяли образцы разнохарактерных почв с различным генетическим происхождением. Гумусовые горизонты разных типов почв имеют разную степень гумусированности, которая должна возрастать в ряду: серая почва – тёмно-серая почва – чернозём. Второй гумусовый горизонт также должен иметь отличия от верхних гумусовых горизонтов в связи с иными условиями. В агрочернозёме отличие гумусовых горизонтов от естественных чернозёмов обусловлено антропогенным влиянием.

### **Описание объектов исследования**

**Серая типичная легкосуглинистая маломощная на карбонатных лессовидных суглинках**

Белгородская область, заповедник «Лес на Ворскле».

Южная часть Русской равнины, выровненная часть очень пологого склона юго-восточной экспозиции.

Растительность: широколиственный лес (дуб, ясень, ясень, клён, липа, вяз).

Подстилка (0-1 см) Листовые пластинки дуба, клёна разной степени разложённости.

АУ (0-22 см) Свежий, серый, рыхлый, структура средне-мелко пылеватая, лёгкий суглинок. Встречаются отбеленные зерна кварца, камеры дождевых червей, обильно пронизан корнями травянистых и древесных (диаметр до 0.5 см) растений. Переход ясный по обилию силтан, граница слабоволнистая.

АЕL (22-36 см) Свежий, буровато-серый с белёсыми присыпками, уплотнённый, структура ореховато-комковатая, лёгкий суглинок. Встречаются тонкие кутаны и силтаны, обильно пронизан корнями древесных (диаметр 1-6 см) растений. Переход постепенный.

ВЕL (36-52 см) Свежий, серый с буровато-коричневыми тонами (внутрипедная масса буровато-тёмно-палевая), уплотнённый – плотнее предыдущего, структура средне-ореховатая, лёгкий суглинок. Есть кутаны и силтаны, встречаются корни растений, грибной мицелий. Переход ясный по цвету, граница слабоволнистая.

ВТ1 (52-91 см) Свежий, буровато-тёмно-палевая внутрипедная масса – буровато-сероватые кутаны, плотный, структура многопорядковая – ореховато-призматическая, легко-средний суглинок. Встречаются корни древесных растений (диаметром до 5 см). Переход заметный по плотности, граница слабоволнистая.

ВТ2 (91-125 см) Свежий, тёмно-палевый с тёмно-коричневыми кутанами, плотный, менее плотный, чем вышележащий горизонт, структура призматически-глыбистая, средний суглинок. Встречаются тонкие корни, ходы корней, прямые палеокротовины на глубине 115-120 см (и на правой стенке на той же глубине). Переход ясный по плотности, граница слабоволнистая.

ВС (125-140 см) Свежий, палевый, уплотнённый, структура неясно призматически-плитчатая, лёгкий суглинок. По граням структурных отдельностей тонкие кутаны, появляются карбонатные прослойки. Переход резкий, граница ровная.

Сса (140-145 см) Свежий, светло-палевый, уплотнённый, более плотный, чем вышележащий горизонт, пронизан карбонатными прослойками.

**Тёмно-серая средне-суглинистая маломощная глубоко карбонатная на карбонатном лессовидном суглинке**

Правобережье Ворсклы, скифское городище Борисовка, Белгородская область.

Южный склон Среднерусской возвышенности, высокая ровная поверхность водораздела.

Растительность: широколиственный лес.

AU (0–15 см) Свежий, тёмно-серый, уплотнённый, комковато-зернистая структура, средний суглинок. Обилие корней. Переход постепенный.

AUe (15–32 см) Свежий, серый с белесым оттенком, уплотнённый, плотнее вышележащего горизонта, мелкокомковатая структура, средний суглинок. Встречаются минеральные зёрна, корней меньше. Переход ясный по цвету, граница слабоволнистая.

BEL[hh] (32–48(50) см) Свежий, тёмно-серый с белесыми пятнами, самый тёмный в профиле, внутripедная масса (ВПМ) тёмно-бурая, плотный, хорошо оструктурен, мелко-ореховатая структура, тяжёлый суглинок. Встречается много корней с максимумом в нижней части горизонта. Переход ясный по цвету, граница слабоволнистая.

BT (48(50)–88(90) см) Свежий, неоднородная окраска, охристо-бурый с буровато-серыми кутанами по граням отдельностей, ВПМ буровато-охристая, плотный, пористый, ореховато-призматическая структура, тяжёлый суглинок. Наблюдаются силтаны до глубины 80 см, обилие кутан. Переход постепенный.

BC (88(90)–120 см) Влажный, буровато-охристый с серовато-бурыми кутанами, менее прогумусированный, менее плотный по сравнению с вышележащим горизонтом, пористый, призматическая структура, тяжёлый суглинок. На глубине 85–95 см расположена кротовина. Переход резкий, граница слабоволнистая.

Сса (120–140 см) Влажный, охристо-палевый и буровато-палевый, плотный (менее плотный чем предыдущий), бесструктурный, лёгкий суглинок. Наблюдаются карбонатные включения по порам, вскипает от соляной кислоты.

**Чернозём миграционно-мицелярный среднесуглинистый на карбонатных лессовидных суглинках**

Белгородская область, заповедник «Белогорье», участок «Острасьевы яры».

Юго-западный склон Среднерусской возвышенности, останец плакора, на поверхности кочки от выбросов слепышей.

Растительность: разнотравно-кострицовая-олуговелея степь.

На поверхности почвы редкие сухие остатки трав, степного войлока на поверхности нет.

AU1 (0-17) Почти сухой, тёмно-серый, заметно уплотнён за счет корней, зернисто-комковатая структура, средний суглинок. Обильно пронизан корнями. Переход ясный по обилию корней, граница слабоволнистая.

AU2 (17-50 см) Почти сухой, тёмно-серый, светлее вышележащего горизонта, уплотнённый, комковато-ореховатая структура, средний суглинок. В нижней части горизонта (с 45 см) вскипает от соляной кислоты. Наблюдается обратная кротовина (18-33 см) диаметром до 20 см. Переход заметный по цвету, граница слабоволнистая.

ВСаmc (50-95 см) Почти сухой, серый с большими палевыми и серо-палевыми пятнами, уплотнённый, непрочно комковатый, средний суглинок. Тонкие корни, по граням структурных отдельностей и корням карбонатные новообразования в виде псевдомицелия, обратная кротовина (82-96 см) диаметром 13 см, бурная реакция с соляной кислотой. Переход постепенный.

ВСса (95-170см) Свежий, светло-серый с серо-палевыми пятнами (количество возрастает к низу горизонта), уплотнённый, непрочно-мелкокомковатый, средний суглинок. По всей толще горизонта отдельные

прожилки от карбонатов кальция. Вскипает от соляной кислоты. Переход постепенный.

Сса (170-195 см) Свежий, палевый с белесым оттенком, уплотненный, бесструктурный, средний суглинок.

### **Агрочернозём миграционно-мицелярный среднесуглинистый на карбонатных лессовидных суглинках**

PU1 (0–20 см). Свежий, тёмно-серый, уплотнённый, наблюдаются плотные комки почвы, комковато-глыбистая структура, тяжёлый суглинок. Включения корней, червороины. Переход резкий, граница ровная.

PU2 (20–40 см). Свежий, тёмно-серый, очень плотный, комковато-глыбистая структура, тяжёлый суглинок. Переход ясный, граница слабоволнистая.

**Таблица 1. Характеристика объектов исследования.**

Гори- зонт	Глубин ы, см	pH		Гидро- лити- ческая кислот- ность (Нг)	Сумма обмен- ных осно- ваний, (S)	Ёмкость катион- ного обмена (ЕКО)	Степень насыщен- ности основа- ниями (V), %	Гигро- скопи- ческая влага, %	Потери при прока- ливании (ППП), %	Собщ., %
		H <sub>2</sub> O	KCl							
Серая почва										
AY	0-22	6,7	5,3	5,3	22,1	26,5	82,4	4,20	8,53	3,64
AEL	22-36	6,3	4,9	4,8	23,2	26,3	84,1	4,60	8,78	1,24
Тёмно-серая почва										
AU1	0-15	6,5	6,0	3,5	27,2	30,0	89,5	4,49	9,83	4,12
AU2	15-32	6,5	6,0	3,9	26,2	29,6	91,3	5,10	10,22	3,51
BEL[hh]	0– 26(32)	6,5	5,9	1,2	43,4	44,5	96,8	4,82	11,34	2,41
Чернозём миграционно-мицелярный										
AU1	0-17	6,6	6,1	1,2	44,4	45,3	97,5	5,18	10,71	3,79
AU2	17-50	6,8	6,3	1,4	45,1	44,9	96,6	5,24	11,07	3,47
Агрочернозём миграционно-мицелярный										
PU1	0-20	6,4	5,9	1,3	44,7	43,9	95,4	4,90	10,44	2,90
PU2	20-40	6,1	5,7	1,3	44,5	43,5	94,7	5,10	10,87	3,07

Физико-химическая характеристика объектов представлена в таблице 1. Все почвы имели близкую к нейтральной реакцию среды, кроме пахотных горизонтов агрочернозёма. Можно сказать, что это гидролитически некислые почвы, они все обладали повышенной и высокой степенью насыщенности основаниями. Значения суммы обменных оснований для данных почв характеризовались как высокие и очень высокие. Наибольшие значения содержания общего углерода были выявлены в тёмно-серой почве и целинном чернозёме миграционно-мицеллярном, а наименьшие — в горизонте AEL серой почвы.

## **2.2. Методы исследования**

### **2.2.1. Аналитические методы исследования свойств выбранных объектов.**

Характеристика физико-химических свойств выбранных объектов проводилась общепринятыми методами (Растворова и др., 1995):

- 1) Водородный потенциал (рН) водной и солевой вытяжки — потенциометрическим методом.
- 2) Гидролитическая кислотность — методом кислотно-основного титрования.
- 3) Сумма обменных оснований (S) — по Каппену.
- 4) Ёмкость катионного обмена (ЕКО) — расчётным способом.
- 5) Гигроскопическая влажность (ГВ) — термостатно-весовым методом.
- 6) Потери при прокаливании (ППП) — прокаливанием в муфеле при 900 °С.
- 7) Содержание углерода органических соединений — по Тюрину.

### **2.2.2. Методы исследования органической части почв.**

- 1) Извлечение гуминовых веществ из почв — щелочным пирофосфатным раствором по Кононовой-Бельчиковой.
- 2) Выделение из почв гуминовых веществ — растворителем на основе ацетона (новый альтернативный метод).
- 3) Метод фракционирования гуминовых веществ на группы, которые различаются по агрегативной устойчивости в определенном диапазоне кислотности. Сорбция ГВ проводилась при  $\text{pH} = 1$  на капроновой кислоте. Десорбция агрегативно устойчивых фракций проводилась фосфатными буферными растворами с рН: 3, 5, 7, 9 и 11, а также и 0,1 н. раствором NaOH ( $\text{pH} = 13$ ).
- 4) Определение углерода органических соединений в водных растворах проводилось по методу В.П. Цыплёнова и А.И. Попова (1979).

5) Определение оптических характеристик (коэффициентов цветности и коэффициентов экстинкции) ГВ проводилось в предварительно выравненных по водородному показателю (при  $pH = 7$ ) растворах при  $\lambda = 465$  нм и  $\lambda = 650$  нм.

**Выделение гуминовых веществ пирофосфатным методом М.М. Кононовой Н.П. Бельчиковой (1961)**

В коническую колбу на 250–300 мл брали навеску почвы 10 г (пропущенной через сито 1 мм) и заливали 200 мл свежеприготовленного раствора пирофосфата натрия ( $0,1 \text{ M Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 + 0,1 \text{ н NaOH}$ ). Полученную смесь закрывали резиновой пробкой, перемешивали и оставляли на 16-18 часов. На следующий день добавляли пипеткой 50 мл насыщенного раствора  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (для коагуляции илистых частиц и ускорения фильтрации), тщательно перемешивали и оставляли на 15–20 минут. Затем отфильтровывали раствор через фильтр белой ленты.

**Выделение гуминовых веществ органическим растворителем (на основе ацетона)**

Почему решили выделять именно ацетоном? Каковы предпосылки?

Гуминовые вещества, являясь коллоидными дифильными молекулами, способны переходить в жидкую фазу слабо полярных растворов. В безводном растворе ацетона ГВ не растворимы, но при добавлении небольшого количества дистиллированной воды (10 % от массы смеси), водный раствор ацетона становится достаточно полярным, чтобы в него переходили ГВ. Кроме того, с позиции теории Г.Н. Льюиса (электронной теории кислот-оснований) (Спозито, 1984; Фиалков, 1989; Москва, 1996), вода и соляная кислота — жёсткие основания. Всё это и обусловило использование 90 % раствора ацетона для выделения ГВ из почв. Кроме того, в отличие от щелочной вытяжки в растворителе на основе ацетона не будет происходить гидролиз ГВ.

В конические колбы на 100 мл брались навески почвы (предварительно отмытые от фотосинтетических пигментов) по 5 г и заливались 50 мл органического растворителя на основе ацетона. Колбы с получившейся смесью



взбалтывали на ротаторе в течение 1 часа, а затем центрифугировали (3000 об./мин.). Раствор после центрифугирования собирался в конические колбы, а осадок с почвой повторно заливался органическим растворителем и ещё раз взбалтывался 1 час. Данная процедура повторялась до тех пор, пока надосадочный раствор не становился прозрачным. Собранные растворы выпаривались досуха и растворялись раствором пирогосфата натрия (0,1 М  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  + 0,1 н  $\text{NaOH}$ ).

**Метод фракционирования гуминовых веществ на группы, отличающиеся агрегативной устойчивостью в определённом диапазоне кислотности.**

Гуминовые вещества, выделенные как раствором пирогосфата натрия, так и органическим растворителем на основе ацетона, довели серной кислотой до  $\text{pH} = 1$ . Затем проводилась сорбция гуминовых веществ на капроновой кислоте (Семёнова, 1981). Капроновую кислоту с сорбированными ГВ, промывали 0,1 н. водным раствором серной кислоты ( $\text{pH} = 1$ ), отделяя промывной раствор центрифугированием. Десорбция агрегативно устойчивых фракций проводилась фосфатным буфером со следующими значениями  $\text{pH}$ : 3, 5, 7, 9 и 11, а также 0,1 н. раствором едкого натра ( $\text{pH} \sim 13$ ). Фракции ГВ, выделенные растворами с разными значениями водородного показателя, отделялись центрифугированием и собирались в конические колбы для дальнейших анализов.

**Определение углерода органических соединений в растворах.**

В полученных растворах после фракционирования проводилось определение углерода органических соединений методом В.П. Цыплёноква и А.И. Попова (1979) без упаривания и с колориметрическим окончанием. Для этого, в сухие пробирки объёмом 50 мл вносили по 200 мг ( $\pm 10$  мг) сухого дихромата калия, затем в них приливали по 5 мл исследуемых растворов и по 5 мл конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Пробирки с полученной смесью ставили в термостат, нагретый до температуры  $140^\circ\text{C}$ , и выдерживали в нём в течение 20 минут. По

прошествии указанного времени, пробирки доставали из термостата, охлаждали и в каждую из них приливали 40 мл дистиллированной воды и перемешивали, после чего измеряли оптическую плотность на фотоэлектроколориметре с оранжевым светофильтром ( $\lambda = 590$  нм). Содержание углерода рассчитывали с помощью калибровочного графика, который строился на основе калибровочного раствора глюкозы, содержащего 1 мг углерода в 1 мл (приготавливали растворы с содержанием в 5-ти мл 1, 2, 3, 4 и 5 мг углерода, соответственно).

Для косвенной оценки качественного состава полученных фракций ГВ, выделенных двумя методами, использовали коэффициенты цветности (по Е. Вельте) и коэффициенты экстинкции (Кононова, 1963; Орлов, 1974; 1990).

**Коэффициенты цветности** (по Е. Вельте) представляют собой отношение оптических плотностей при длинах волн 465 нм и 650 нм. Оптические плотности при данных длинах волн определялись во всех выделенных фракциях гуминовых веществ, полученных путём выделения щелочным пирофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона. Коэффициент цветности отражает соотношение между ядерной (ароматической) и периферической (алифатической) частями гумусовых кислот. Чем выше абсолютные величины коэффициента цветности, тем менее сложное строение имеют гумусовые кислоты (Кононова, 1963; Орлов, 1974; 1990; Бажина, Ондар, 2014).

**Коэффициент экстинкции** характеризуют оптические плотности раствора гумусовых кислот для слоя 1 см, при концентрации ГК – 0,001% при длине волны 465 нм (Орлов, 1974). Считается (Орлов, 1974; 1990; Бажина, Ондар, 2014), что наименьшие значения этих коэффициентов имеют гумусовые кислоты с бóльшей молекулярной массой.

Полученные результаты исследований подвергались математической обработке методами вариационной статистики (Доспехов, 1979; Боровиков, Боровиков, 1997; Попов и др., 2009). Повторность анализов — трёхкратная. Оценка существенности различия между выборочными средними (между

средними вариантов) проводилась с помощью дисперсионного анализа при сравнении фактического критерия Фишера ( $F_{\text{факт.}}$ ) с теоретическим критерием при  $\alpha = 0,05$  ( $F_{05}$ ), а оценка значимости разности между средними — по величине наименьшей существенной разности ( $\text{НСР}_{05}$ ). Кроме того, вычислялись: выборочное среднее ( $\bar{X}$ ), ошибка выборочной средней ( $S_x$ ), коэффициент варьирования ( $V, \%$ ), относительная ошибка выборочной средней, доверительный интервал ( $t \cdot S_x$ ), дисперсия ( $s^2$ ) и стандартное отклонение ( $s$ ).

### 3. Результаты исследования

#### 3.1. Влияние исходной концентрации гумусовых кислот на отношение $C_{ГК}/C_{ФК}$ .

В практике российских почвоведов оценка качественного состава почвенного органического вещества базируется на определении так называемого гумусового состояния почв (Гришина, Орлов, 1978; Орлов и др., 1996; 2004). При этом отношение углерода гуминовых кислот к углероду фульвокислот ( $C_{ГК}/C_{ФК}$ ) — считается наиболее информативным показателем при всей его условности. Выравнивание концентрации гумусовых кислот по углероду в получаемых щелочных вытяжках перед осаждением ГК обычно не производится.

В таблице 2 приведены величины отношения  $C_{ГК}/C_{ФК}$ .

**Таблица 2. Величины отношения углерода гуминовых кислот к углероду фульвокислот ( $C_{ГК}/C_{ФК}$ ).**

Объекты исследования	Концентрация гумусовых кислот, мг углерода в 1 мл		
	1,00	0,50	0,25
AY, серая почва	0,79	0,49	0,48
AEL, серая почва	0,39	0,37	0,30
AU1, темно-серая почва	0,71	0,62	0,39
AU2, темно-серая почва	0,81	0,71	0,72
BEL[hh], темно-серая почва	0,61	0,52	0,12
AU1, чернозем миграционно-мицелярный	1,21	0,89	0,63
AU2, чернозем миграционно-мицелярный	0,71	0,57	0,33
PU1, агрочернозем миграционно-мицелярный	1,10	1,01	0,77
PU2, агрочернозем миграционно-мицелярный	0,67	0,60	0,36

Было установлено (табл. 1), что во всех объектах исследования с уменьшением концентрации растворов гумусовых кислот происходило сужение отношения  $C_{ГК}/C_{ФК}$ , то есть снижалась доля ГК и возрастала доля ФК. Это явление было обусловлено коллоидными свойствами гуминовых веществ (Попов, 2004), в частности критической концентрацией мицеллообразования (ККМ), т. е. такой концентрации, при которой начинается самопроизвольное мицеллообразование — образование супрамолекулярных комплексов (Фролов, 1988).

Таким образом, для повышения информативности и сравнимости параметров гумусового состояния почв, в частности такого важного параметра, как отношение  $C_{ГК}/C_{ФК}$ , перед осаждением ГК необходимо выравнивать по концентрации растворы гумусовых кислот (сумма ГК и ФК) — до какой то одной определенной для всех объектов.

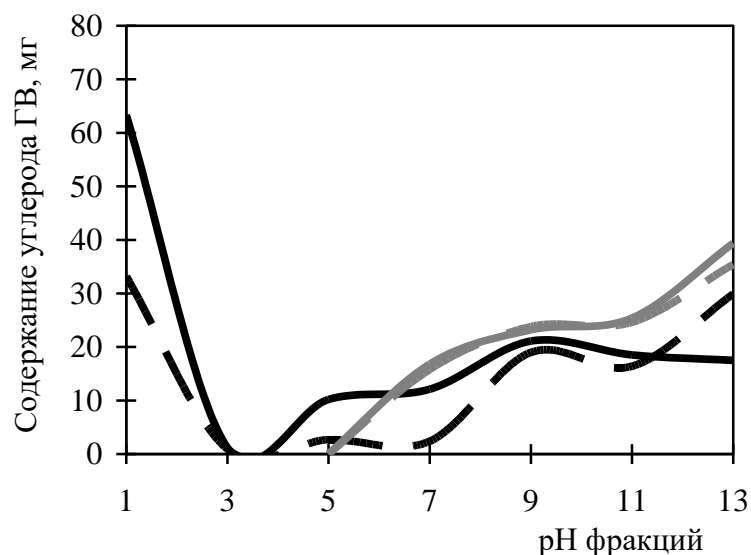
### **3.2. Сравнение результатов фракционирования гуминовых веществ, выделенных щелочным пирофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона.**

Поскольку нами была выявлена зависимость отношения  $C_{ГК}/C_{ФК}$  от исходной концентрации гумусовых кислот, то для фракционирования использовалась смесь гумусовых кислот, без разделения на ГК и ФК.

Фракционирования осуществлялось на основе агрегативной устойчивости смеси гумусовых кислот (ГК + ФК). С позиции коллоидной химии (Фролов, 1988), агрегативная устойчивость (устойчивость к агрегации) дисперсной системы обусловлена законами термодинамики. В такой дисперсной системе поверхностная энергия скомпенсирована энтропийной составляющей, благодаря чему система проявляет термодинамическую агрегативную устойчивость и в ней не происходит коагуляция (Фролов, 1988).

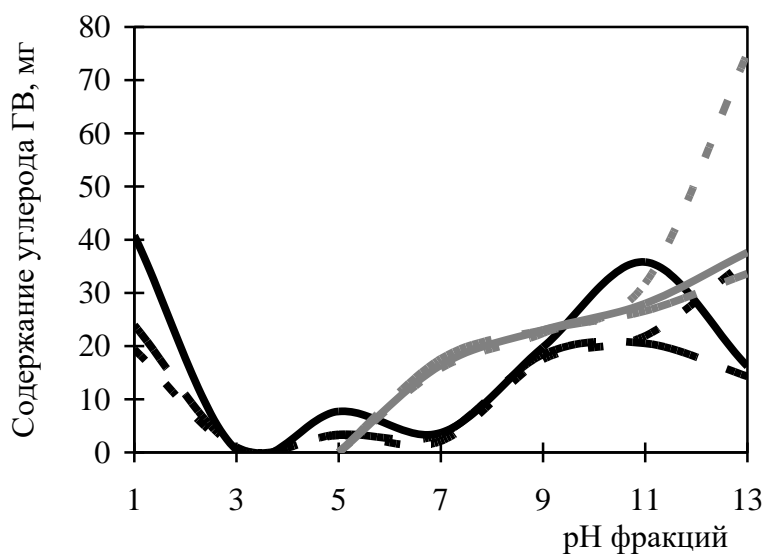
В результате фракционирования гуминовых веществ, выделенных двумя вытяжками (щелочным пирофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона), было получено (рис. 2–6, табл. 1 и 2 приложения), что в случае извлечения щелочным пирофосфатным раствором количество фракций ГВ было 7, а в случае выделения растворителем на основе ацетона — только 4. Фракции, выделявшиеся в диапазоне с  $pH = 1-7$ , условно отнесли к фульвокислотам, а в диапазоне  $pH = 9-13$  — к гуминовым кислотам.

В соответствии с разными точками зрения ФК могут рассматриваться либо как предшественники ГК, либо как продукты их разложения. По мнению Р. Тейта III (1991), разумнее рассматривать ФК и как предшественники, и как продукты трансформации ГК. В то же время Д.С. Орлов (1999) считал, что ФК появляются аналитически в результате щелочного и/или кислотного гидролиза различных органических веществ, входящих в состав почв, т. е. ФК представляют собой артефакт. В связи с чем, полученные нами результаты исследования подтвердили точку зрения Д.С. Орлова. Иными словами, при извлечении ГВ растворителем на основе ацетона не произошло гидролитического разложения специфических веществ с образованием ФК.



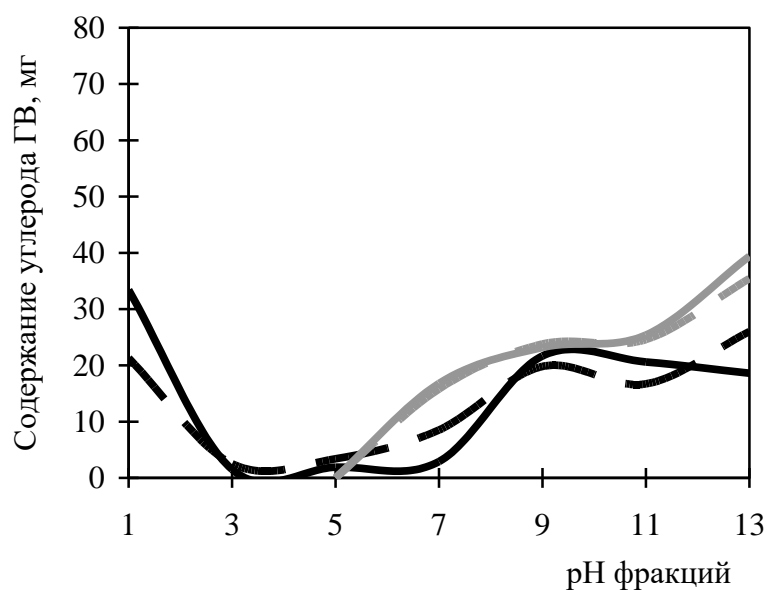
**Рисунок 2. – Содержание углерода во фракциях гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов серой почвы:**

— щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. АУ; — — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. АЕЛ; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. АУ; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. АЕЛ.

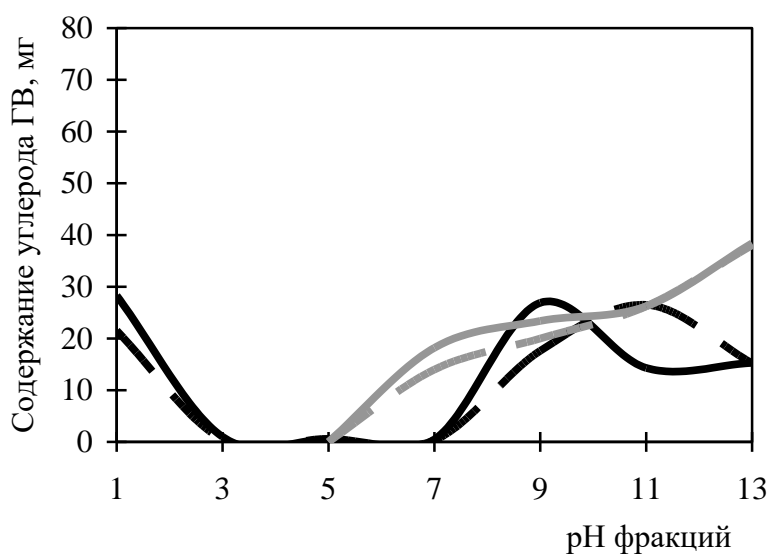


**Рисунок 3. – Содержание углерода во фракциях гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов тёмно-серой почвы:**

— щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. АУ1; — — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. АУ2; ····· щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. ВЕЛ[hh]; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. АУ1; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. АУ2; ····· вытяжка на основе ацетона из гор. ВЕЛ[hh].



**Рисунок 4. – Содержание углерода во фракциях гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов миграционно-мицелярного чернозёма:**  
 ————— — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. AU1; — — — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. AU2; ————— — вытяжка на основе ацетона из гор. AU1; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. AU2.

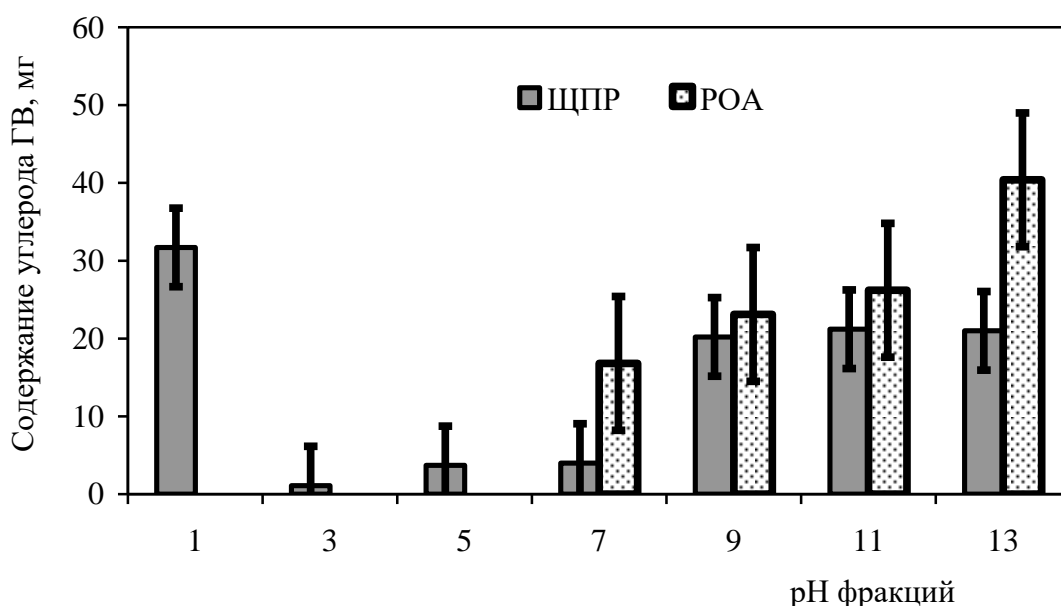


**Рисунок 5. – Содержание углерода во фракциях гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов миграционно-мицелярного агрочернозёма:**  
 ————— — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. PU1; — — — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. PU2; ————— — вытяжка на основе ацетона из гор. PU1; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. PU2.



При сравнении результатов фракционирования ГВ по агрегативной устойчивости в разных диапазонах рН было получено (рис. 2–5), что характер изменения содержания углерода во фракциях ГВ, выделенных растворителем на основе ацетона (РОА), в пределах почвенных разновидностей (при сравнении погоризонтно) был однотипным, тогда как в случае извлечения ГВ щелочным пирофосфатным раствором (ЩПР), содержание углерода во фракциях варьировало.

Для всех объектов, в составе ГВ, выделенных ЩПР, было отмечено наличие первой фракции (рН = 1), содержание углерода в которой существенно преобладало над таковым во фракциях 2, 3 и 4 (с рН равной 3, 5 и 7, соответственно). Содержание углерода ГВ во фракциях, характеризующихся агрегативной устойчивостью в щелочном диапазоне (с рН равной 9, 11 и 13), заметно повышалось. Всего выделялось три «пика» фракций с рН = 1, рН = 5 и рН = 9–11. В случае фракционирования ГВ, выделенных РОА, во всех объектах наблюдалось постепенное возрастание содержания углерода во фракциях с агрегативной устойчивостью в щелочном диапазоне (от рН = 7 до рН = 13).



**Рисунок 6. – Сравнение содержания углерода во фракциях гуминовых веществ, выделенных двумя методами: щелочным пирофосфатным раствором (ЩПР) и растворителем на основе ацетона (РОА):**  
размах — НСР<sub>05</sub>.

В общем виде (усреднение по объектам) результаты фракционирования приведены на рисунке 6. Большие значения  $\text{HCP}_{05}$  для фракций ГВ, выделенных РОА, свидетельствуют о разном содержании углерода во фракциях ГВ различных объектов, по сравнению с фракциями ГВ, извлеченных ЩПР.

Таким образом, в результате фракционирования гуминовых веществ было получено, что в случае извлечения щелочным пирофосфатным раствором количество фракций ГВ было 7, а в случае выделения растворителем на основе ацетона — только 4 (отсутствовали первые фракции с  $\text{pH} = 1, 3$  и  $5$ ).

Характер изменения содержания углерода во фракциях гуминовых веществ, выделенных растворителем на основе ацетона, в пределах почвенных разновидностей (при сравнении погоризонтно) был однотипным, тогда как в случае извлечения ГВ щелочным пирофосфатным раствором (ЩПР), содержание углерода во фракциях варьировало.

### **3.3. Сравнение оптических характеристик фракций гуминовых веществ, выделенных щелочным пирофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона.**

Хорошо известно (Кононова, 1963; Орлов, 1974; 1990; Бажина, Ондар, 2014), что поглощение света гуминовыми кислотами в видимой и ультрафиолетовой областях, несмотря на монотонность абриса их спектра, обладает специфичностью для почв разных условий формирования. Это проявляется в наклоне спектральной кривой по отношению к оси абсцисс, а также в величинах оптических плотностей при определенных длинах волн, в вычисляемых на их основе величинах коэффициентов цветности и коэффициентов экстинкции.

При оценке гуминовых веществ, различий в сложности их молекул, в зависимости от условий их формирования, а также выявления различных воздействий с использованием электронных спектров поглощения света чаще всего применяются: коэффициенты цветности ( $Q_{4/6}$ ) и коэффициенты экстинкции  $E^{0,001\% \text{ c}}$  (Орлов, 1990; Горбов, Безуглова, 2013; Бажина, Ондар, 2014). Теоретические предпосылки интерпретации электронных спектров поглощения гумусовых кислот хорошо описаны (Орлов, 1990).

#### **3.3.1. Сравнение коэффициентов цветности фракций гуминовых веществ, отличающихся агрегативной неустойчивостью при разных значениях водородного показателя.**

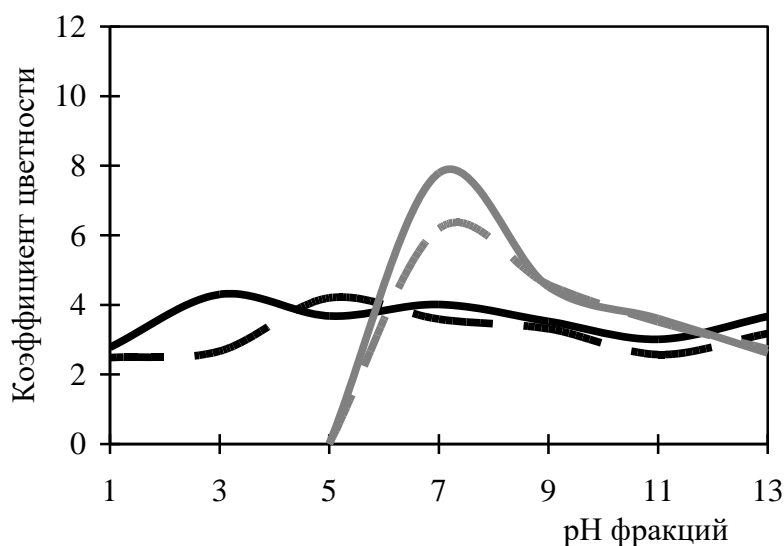
Принято считать (Кононова, Бельчикова, 1961; Орлов, 1974; 1990), что по коэффициенту цветности ( $Q_{4/6}$ ) можно проводить сравнения степени ароматичности молекул ГК разных условий формирования, при этом и поэтому чем выше абсолютные величины коэффициента цветности, тем менее сложное строение имеют гумусовые кислоты, тем менее они конденсированы.

По мнению М.М. Кононовой и Н.П. Бельчиковой (1961) коэффициент цветности  $Q_{4/6}$  у гуминовых кислот разных типов почв имел следующие

значения: для подзолистых почв — около 5,0; тёмно-серой почвы — 3,5; обыкновенного чернозёма — 3,0-3,5; каштановых почв — 3,8-4,0; серозёмов — 4,0-4,5; краснозёмов — около 5,0. У фульвокислот коэффициент  $Q_{4/6}$  изменялся в пределах 6,0-8,5.

Нами было выявлено (рис. 7-11, табл. 3 и 4 приложения), что различия между величинами коэффициентов цветности разных фракций ГВ, выделенных щелочным пиррофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона были заметными.

На рисунках 7-10 представлены значения коэффициентов цветности разных фракций ГВ, выделенных щелочным пиррофосфатным раствором и растворителем на основе ацетона, демонстрирующие различия по генетическим горизонтам и типам почв. В целом, можно сказать, что коэффициенты цветности ГВ, выделенные РОА, имели одинаковых характер распределения по генетическим горизонтам в разным типах почв, а таковые, извлеченные ЩПР, варьировали.

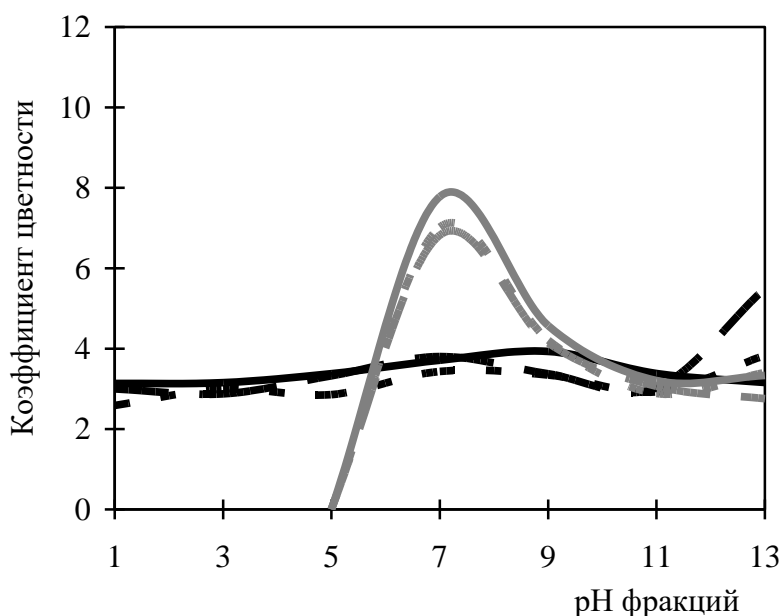


**Рисунок 7. – Сравнение коэффициентов цветности фракций гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов серой почвы:**

— — — щелочная пиррофосфатная вытяжка из гор. АУ; — — — щелочная пиррофосфатная вытяжка из гор. АЕЛ; — — — вытяжка на основе ацетона из гор. АУ; — — — вытяжка на основе ацетона из гор. АЕЛ.

На рисунке 7 приведены коэффициенты цветности, определенные для ГВ серой почвы. Коэффициенты цветности ГВ, выделенные РОА, верхнего (АУ) и нижележащего (АЕЛ) горизонтов хорошо коррелируют между собой и имеют максимальные значения во фракции с  $pH = 7$ , в отличие от значений коэффициентов цветности, выделенных ЩПР, которые имеют несколько «пиков» значений в тех же горизонтах.

Характер изменения значений коэффициентов цветности ГВ, выделенных ЩПР из всех горизонтов тёмно-серой почвы, был сходным (рис. 8), величины  $Q_{4/6}$  фракций ГВ мало различались между собой, имело место некоторое повышение значения этого показателя для фракции ГВ горизонта АУ2 с агрегативной устойчивостью при  $pH = 13$ .



**Рисунок 8. – Сравнение коэффициентов цветности фракций гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов тёмно-серой почвы:**

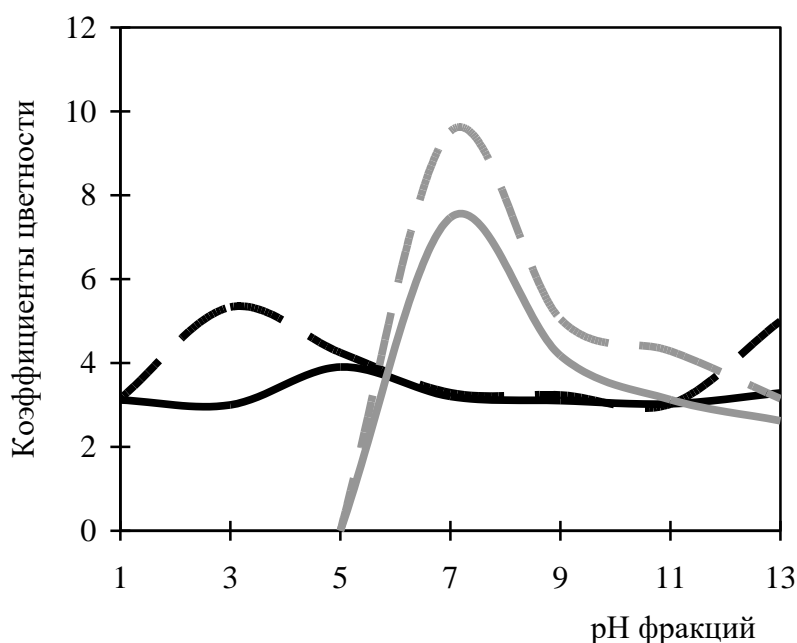
————— — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. АУ1; — — — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. АУ2; — · — · — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. ВЕЛ[hh]; ————— — вытяжка на основе ацетона из гор. АУ1; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. АУ2; — · — · — — вытяжка на основе ацетона из гор. ВЕЛ[hh].

В случае ГВ, извлеченных РОА из разных горизонтов тёмно-серой почвы, величины коэффициентов цветности также не отличились друг от друга,

хотя характер изменения значений этого параметра был иной (рис. 8). Отчётливо выделялась фракция с агрегативной устойчивостью при  $pH = 7$ .

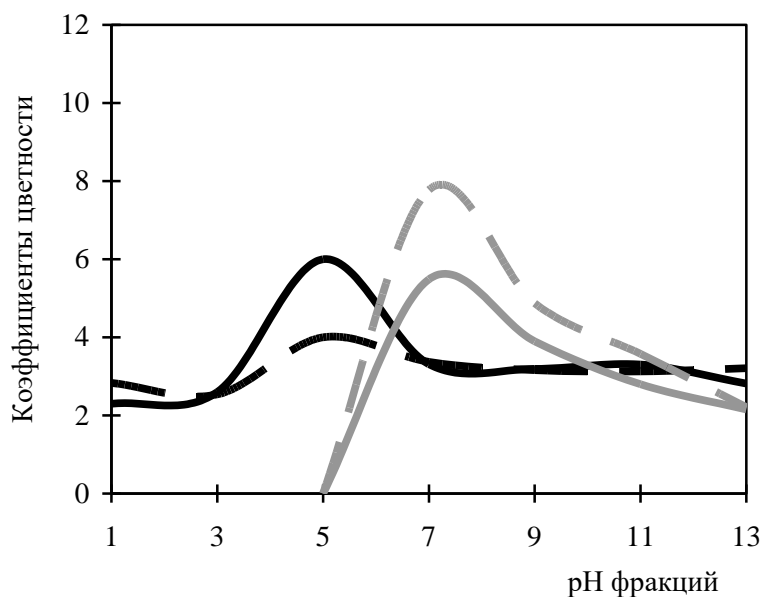
Коэффициенты цветности гуминовых веществ ГВ, выделенных двумя методами из верхних горизонтов целинного и пахотного чернозёмов представлены на рисунках 9 и 10.

Гуминовые вещества, выделенные щелочным пирофосфатным раствором из гумусовых горизонтов (AU1 и AU2) целинного чернозёма, характеризуются однотипным характером изменения значений коэффициентов цветности во всех фракциях, исключение составляли ГВ, агрегативно устойчивые при  $pH = 3$  и при  $pH = 13$  (рис. 9). В случае сравнения коэффициентов цветности ГВ, выделенных также ЩПР из пахотных горизонтов агрочернозёма (рис. 10), было выявлено, что величины всех фракций ГВ слабо отличались друг от друга. В обоих пахотных горизонтах максимальные величины коэффициентов цветности ГВ соответствовали значениям фракций с агрегативной устойчивостью при  $pH = 5$ .



**Рисунок 9. – Сравнение коэффициентов цветности фракций гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов миграционно-мицелярного чернозёма:**

——— — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. AU1; - - - — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. AU2; — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. AU1; — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. AU2.



**Рисунок 10. – Сравнение коэффициентов цветности фракций гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов миграционно-мицелярного агрочернозёма:**

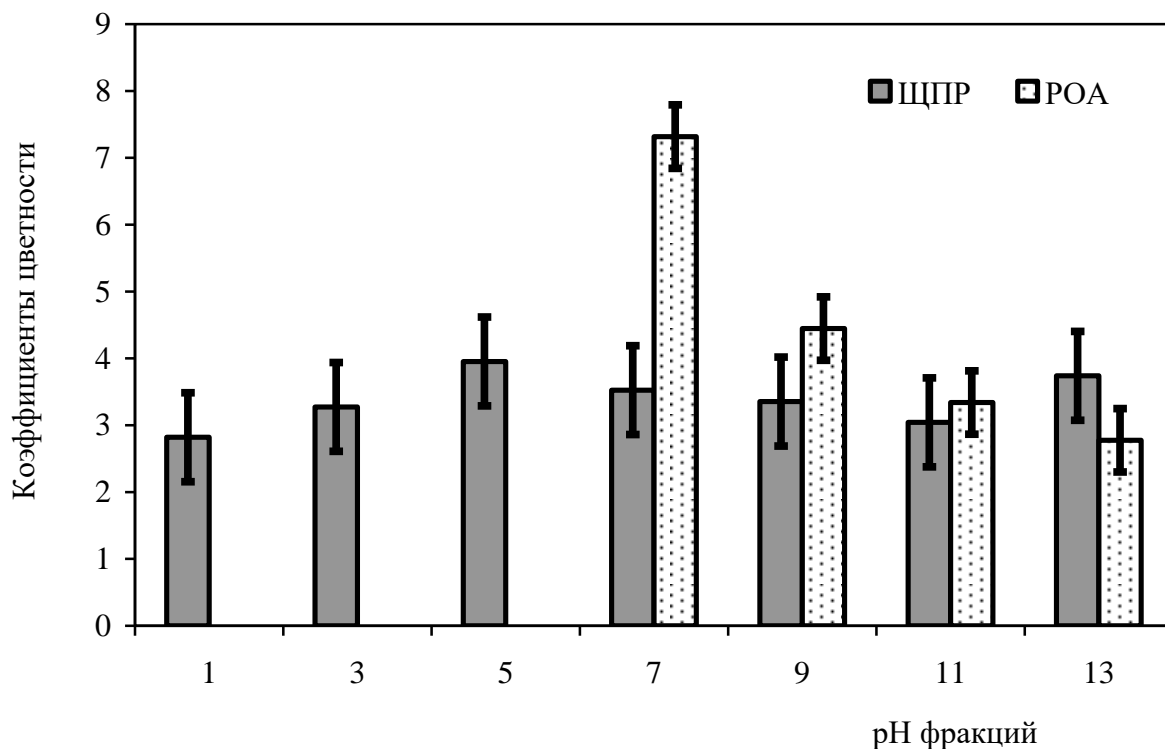
— — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. PU1; — — — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. PU2; — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. PU1; — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. PU2.

В случае фракционирования ГВ, извлеченных РОА из верхних горизонтов целинного и пахотного чернозёмов, характер изменений величин коэффициентов цветности был практически одинаков с отчетливым «пиком» значений фракций с агрегативной устойчивостью при  $pH = 7$  (рис. 9 и 10).

Так, величины коэффициентов цветности фракций ГВ, усреднённые по горизонтам, выделенных щелочным пирофосфатным раствором, слабо различались между собой (рис. 11). Данный факт, по-видимому, был обусловлен сильным гидролитическим действием щелочного пирофосфатного раствора на гумусовые кислоты, в результате которого происходит некоторое «усреднение» свойств фракций.

Величины коэффициентов цветности, усреднённые по горизонтам, разных фракций ГВ, выделенных растворителем на основе ацетона, существенно различались между собой (рис. 11). Наибольшие значения коэффициентов цветности в этом случае наблюдались во фракции с  $pH = 7$ , а

наименьшие во фракции с  $\text{pH} = 13$ . Иными словами, чем выше была щёлочность фракций, тем больше была доля соединений с сопряжённой связью.



**Рисунок 11. – Коэффициенты цветности фракций гуминовых веществ, выделенных щелочным пирофосфатным раствором (ЩПР) и растворителем на основе ацетона (РОА):**  
размах —  $\text{НСР}_{05}$ .

Исходя из специфического красно-оранжевого цвета и величины коэффициента цветности ( $Q_{4/6} = 7,3$ ), можно предположить, что во фракции с  $\text{pH} = 7$  выделились какие-то алифатические соединения, скорее всего это был гломалин (или грибные гликопротеиды). Качественные реакции на белок (ксантопротеиновая реакция с  $\text{HNO}_3$ ) и углеводы (реакция «медного зеркала» с  $\text{CuSO}_4$ ) подтвердили наше предположение.

Итак, величины коэффициентов цветности фракций ГВ, выделенных щелочной пирофосфатной вытяжкой, слабо различались между собой, тогда как, таковые ГВ, выделенных растворителем на основе ацетона существенно различались между собой. Было выявлено, что в случае фракций ГВ,

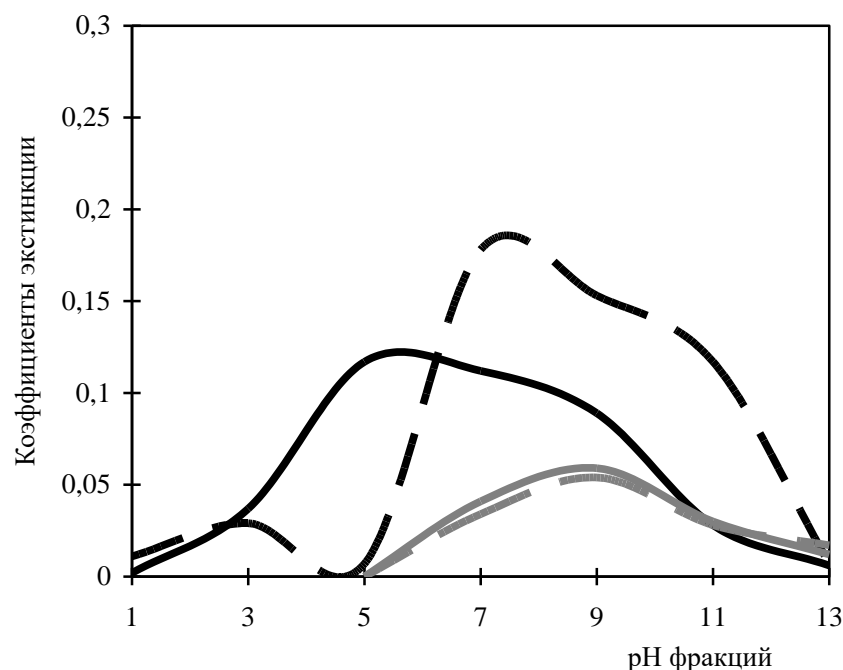


выделенных растворителем на основе ацетона, с увеличением щёлочности фракций доля соединений с сопряжённой связью возрастала. Кроме того, по всей видимости, во фракции с  $\text{pH} = 7$  выделялись грибные гликопротеиды (гломалин).

### **3.3.2. Сравнение коэффициентов экстинкции фракций гуминовых веществ, отличающихся агрегативной неустойчивостью при разных значениях водородного показателя.**

Коэффициенты экстинкции ( $E^{0,001\% \text{ C}}$ ) при длине волны 465 нм и определенной (0,001 %) концентрации гумусовых кислот по углероду позволяют проводить сравнения ГВ разных условий формирования. Коэффициент экстинкции наиболее часто используется в качестве обязательного параметра, который введен Д.С. Орловым и О.Н. Бирюковой (2005) в модифицированную систему показателей гумусного состояния почв. Считается (Орлов, 1990), что наименьшие значения этих коэффициентов имеют гумусовые кислоты с относительно бóльшей молекулярной массой.

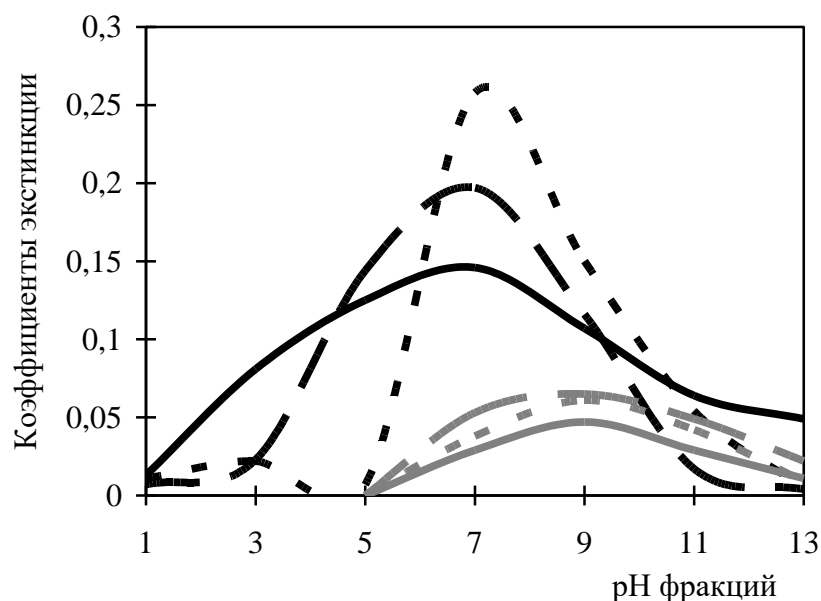
На рисунке 12 отражены различия значений коэффициентов экстинкции гуминовых веществ, выделенных ЩПР и РОА, в двух верхних горизонтах серой почвы. При щелочном извлечении гуминовых веществ корреляция значений между верхним и нижележащим горизонтами практически отсутствовала ( $r = 0,48$ ), в то время как ацетоновая вытяжка показала высокую степень корреляции значений ( $r = 0,98$ ). Гуминовые вещества, выделенные ЩПР, имели разные «пики» значений коэффициентов экстинкции в двух горизонтах: горизонт АУ — фракция ГВ с агрегативной устойчивостью при  $\text{pH} = 5$ , а горизонт АЕЛ — при  $\text{pH} = 3$  и  $\text{pH} = 7$ . Гуминовые вещества, извлеченные РОА, имели один максимум значений коэффициентов экстинкции для двух горизонтов (АУ и АЕЛ), который приходился на фракции ГВ с агрегативной устойчивостью при  $\text{pH} = 9$ .



**Рисунок 12. – Сравнение коэффициентов экстинкции фракций гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов серой почвы:**

— — — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. АУ; — — — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. АЕЛ; — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. АУ; — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. АЕЛ.

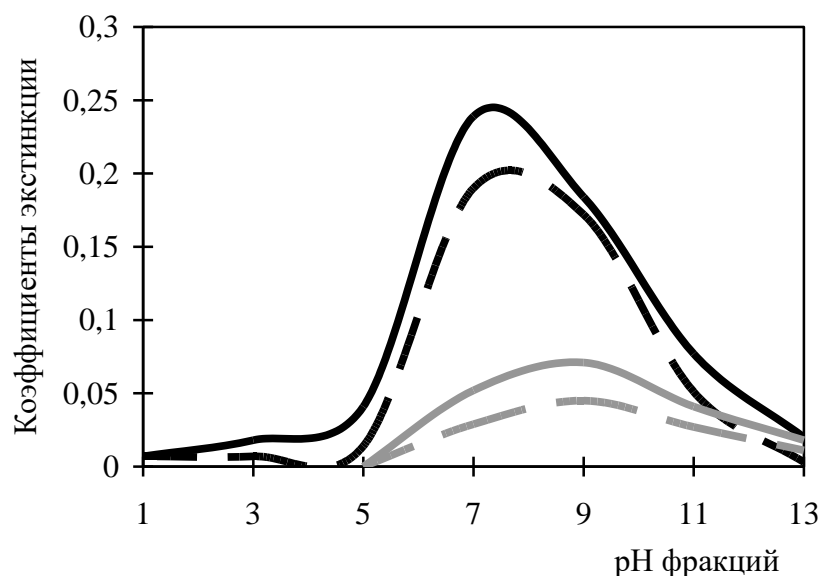
На рисунке 13 можно наблюдать отсутствие корреляции коэффициентов экстинкции ГВ верхних горизонтов тёмно-серой почвы, выделенных двумя методами. Так, значения коэффициентов экстинкции ГВ, извлечённых ЩПР, имели слабую степень корреляции, а выделенные РОА — сильно коррелировали между собой ( $r = 0,98$ ,  $r = 0,97$  и  $r = 0,99$ , между ГВ гор. АУ1 и гор. АУ2, гор. АУ1 и гор. ВЕЛ[hh], гор. АУ2 и и гор. ВЕЛ[hh], соответственно). При щелочном извлечении ГВ максимум значений их коэффициентов экстинкции во всех горизонтах приходился на фракцию с агрегативной устойчивостью при  $pH = 7$ . При выделении ГВ с помощью РОА характер распределения значений коэффициентов экстинкции гуминовых веществ во всех горизонтах был схожим, максимум величин приходился на фракции с агрегативной устойчивостью при  $pH = 9$ .



**Рисунок 13. – Сравнение коэффициентов экстинкции фракций гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов тёмно-серой почвы:**

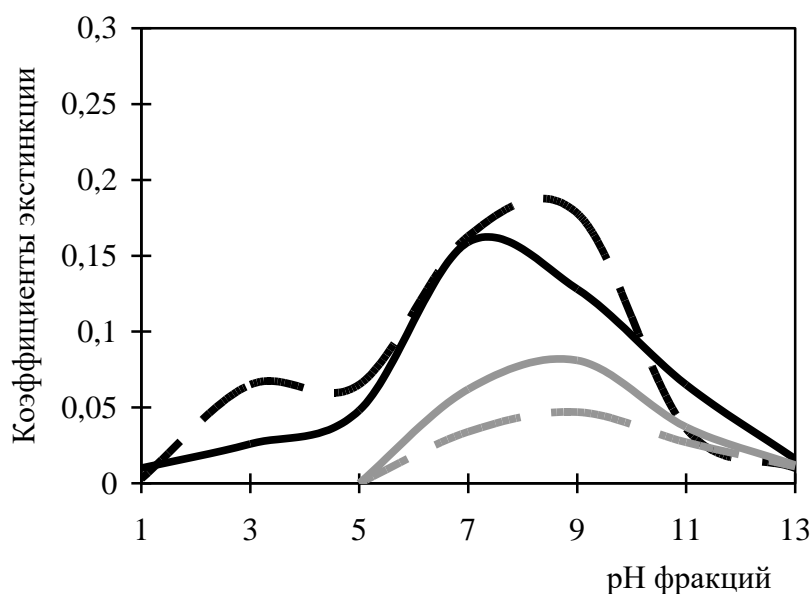
— — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. AU1; — — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. AU2; - - - - - щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. BEL[hh]; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. AU1; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. AU2; - - - - - вытяжка на основе ацетона из гор. BEL[hh].

На рисунках 14 и 15 представлены значения коэффициентов экстинкции гуминовых веществ, выделенных ЩПР и РОА из гумусовых горизонтов целинного и пахотного чернозёмов, соответственно. Распределение значений коэффициентов экстинкции ГВ, выделенных ЩПР из верхних горизонтов целинного чернозёма (рис. 14), имели общий характер ( $r = 0,99$ ), а максимум значений коэффициентов экстинкции приходился на фракции ГВ с агрегативной устойчивостью при  $pH = 7$ . При этом характер распределения коэффициентов экстинкции фракций гуминовых веществ, выделенных ЩПР из верхней и нижней частей пахотных горизонтов агрочернозёма, заметно различался (рис. 15): максимум значений из гор. PU1 приходился на фракцию с  $pH = 7$ , а из гор. PU1 на фракции с  $pH = 3$  и  $pH = 9$ .



**Рисунок 14. – Сравнение коэффициентов экстинкции фракций гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов миграционно-мицелярного чернозёма:**

— щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. AU1; — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. AU2; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. AU1; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. AU2.

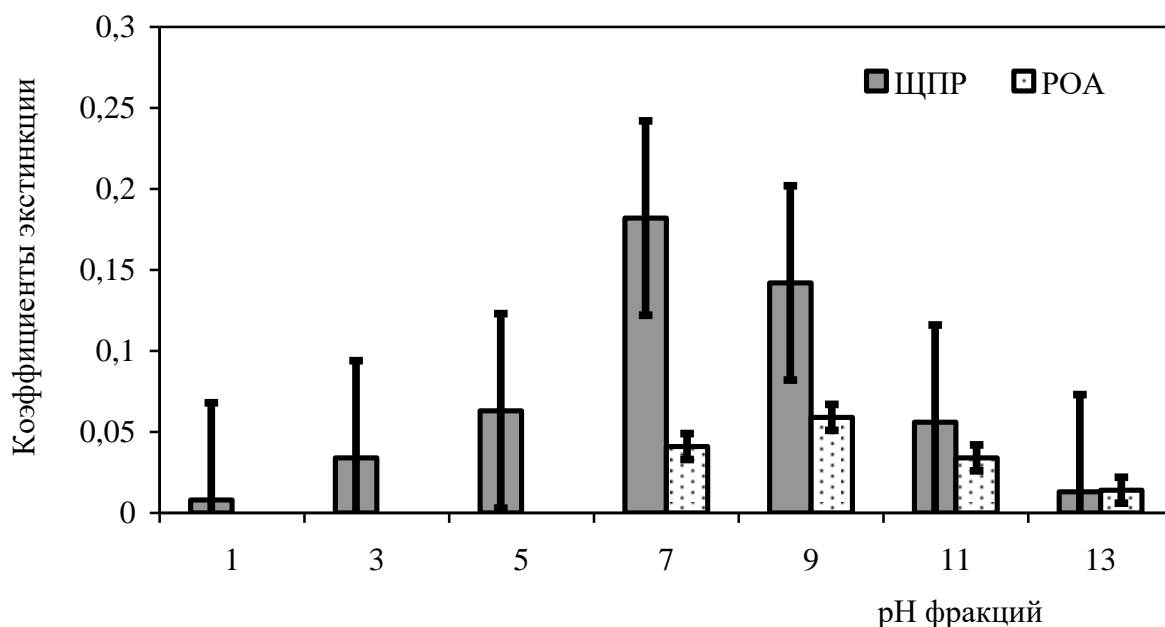


**Рисунок 15. – Сравнение коэффициентов экстинкции фракций гуминовых веществ, выделенных двумя разными вытяжками из верхних горизонтов миграционно-мицелярного агрочернозёма:**

— щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. PU1; — — щелочная пирофосфатная вытяжка из гор. PU2; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. PU1; — — — — — вытяжка на основе ацетона из гор. PU2.

Гуминовые вещества, выделенные РОА из гумусовых горизонтов целинного и пахотного чернозёмов, имели однотипный характер распределения значений коэффициентов экстинкции (рис. 14 и 15), при этом нижележащие горизонты и целинного, и пахотного чернозёмов имели меньшие значения, чем верхние горизонты тех же почв, максимум всех значений коэффициентов экстинкции приходился на фракции ГВ с агрегативной устойчивостью при рН = 9.

Сравнение коэффициентов экстинкции ГВ усреднённых погоризонтно представлено на рисунке 16. Коэффициенты экстинкции ГВ, извлечённых ЩПР, в целом имели более высокие значения, чем выделенных РОА (табл. 5 и 6 приложения), т. е. ГВ, выделенные ЩПР, подвергались сильному гидролитическому воздействию, которое привело, как считается (Орлов, 1990), к уменьшению молекулярной массы. Наибольшие значения коэффициентов экстинкции при извлечении ГВ ЩПР наблюдались во фракции ГВ с агрегативной устойчивостью при рН = 7, а при извлечении ГВ РОА — во фракции с агрегативной устойчивостью при рН = 9.



**Рисунок 16. – Коэффициенты экстинкции фракций гуминовых веществ, выделенных щелочным пирофосфатным раствором (ЩПР) и растворителем на основе ацетона (РОА):**  
размах — НСР<sub>05</sub>.

Итак, при сравнении коэффициентов экстинкции ГВ, выделенных двумя методами, заметны различия в значениях: при извлечении ГВ ЩПР было выявлено, что ГВ фракций с агрегативной устойчивостью при  $\text{pH} = 7$  и  $\text{pH} = 9$  характеризовались относительно высокими значениями коэффициентов экстинкции, а при выделении ГВ РОА, у всех фракций величины коэффициентов экстинкции были относительно низкими с максимумом во фракции с  $\text{pH} = 9$ .

Таким образом, результаты определения оптических характеристик гуминовых веществ (коэффициентов цветности и коэффициентов экстинкции) подтвердили мнение Д.С. Орлова, что ФК представляют собой артефакт, обусловленный щелочным гидролитическим действием.

Кроме того, предположительно нам удалось выделить гломалин отдельной фракцией.

Гуминовые вещества, извлечённые растворителем на основе ацетона, имели во всех фракциях, по всей видимости, бóльшую молекулярную массу по сравнению с таковыми ГВ, выделенными щелочным пирофосфатным раствором.

## Выводы

1. Установлено, что во всех объектах исследования с уменьшением концентрации растворов гумусовых кислот происходило сужение отношения углерода гуминовых кислот к углероду фульвокислот.

2. Для повышения информативности и сравнимости такого параметра гумусового состояния почв, как отношение  $C_{ГК}/C_{ФК}$ , перед осаждением гуминовых кислот необходимо выравнивать по концентрации растворы гумусовых кислот.

3. Показано, что в результате фракционирования гуминовых веществ, извлеченных щелочным пирофосфатным раствором, количество фракций ГВ было 7, а в случае выделения растворителем на основе ацетона — только 4 (отсутствовали первые фракции с  $pH = 1, 3$  и  $5$ ).

4. Характер изменения содержания углерода во фракциях гуминовых веществ, выделенных растворителем на основе ацетона, в пределах почвенных разновидностей (при сравнении погоризонтно) был однотипным, тогда как в случае извлечения ГВ щелочным пирофосфатным раствором, содержание углерода во фракциях варьировало.

5. Получено, что величины коэффициентов цветности фракций гуминовых веществ, выделенных щелочным пирофосфатным раствором, слабо различались между собой, тогда как, таковые, извлеченные растворителем на основе ацетона, существенно различались между собой.

6. Выявлено, что в случае фракций гуминовых веществ, выделенных растворителем на основе ацетона, с увеличением щелочности фракций доля соединений с сопряженной связью возрастала. Кроме того, по всей видимости, во фракции с  $pH = 7$  выделялись грибные гликопротеиды (гломалин).

7. При сравнении коэффициентов экстинкции было выявлено, что гуминовые вещества, выделенные щелочным пирофосфатным раствором,

имели гораздо меньшие молекулярные массы, чем выделенные ацетоном, что свидетельствует о том, что альтернативный метод лучше сохраняет свойства исходных гуминовых кислот.

8. Результаты определения оптических характеристик гуминовых веществ (коэффициентов цветности и коэффициентов экстинкции) подтвердили мнение Д.С. Орлова, что фульвокислоты представляют собой артефакт и они не являются исходным компонентом гумуса, а образуются в процессе щелочного извлечения.

9. Из полученных экспериментальных данных следовало, что при использовании метода выделения с помощью растворителя на основе ацетона, извлечённые гуминовые вещества обладают свойствами более близкими к исходным, чем при их выделении щелочным пиродифосфатным раствором.



## Список литературы

- Абрамян С. А. Изменение ферментативной активности почвы под влиянием естественных и антропогенных факторов // Почвоведение. 1992. № 7. С. 70–82.
- Александров В. Г., Зак Г. А. Бактерии, разрушающие алюмосиликаты // Микробиология. 1950. Т. 19. Вып. 2. С. 10–17.
- Александрова Л. Н. Процессы гумусообразования в почве // Гумусовые вещества почвы (их образование, состав, свойства и значение в почвообразовании и плодородии) / Записки Ленингр. с.-х. ин-та. — Л.-Пушкин, 1970. Т. 142. С. 26–82.
- Александрова Л. Н. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации. — Л.: Наука, 1980.
- Александрова Л. Н., Назарова А. В. Гетерогенность гуминовых кислот и её происхождение // Проблемы почвоведения / Советские почвоведы к 11 Междунар. конгрессу в Канаде, 1978 г. — М.: Наука, 1978. С. 48–52.
- Андреева И. М. О процессах превращения воднорастворимых гумусовых веществ // Гумус и почвообразование/ Научн. труды Ленингр. с.-х. ин-та. Л.-Пушкин, 1966. Т. 105. Вып. 1.
- Антипов-Каратаев И. Н., Келлерман В. В., Горбунов Н. И. О коллоидно-химической природе почвенного агрегата// Труды Третьей Всесоюзн. конф. по коллоидной химии. — М., 1956. С. 171–181.
- Бажина Н. Л., Ондар Е. Э., Дерябина Ю. М. Специфика поглощения света в видимой и ультрафиолетовой области спектра гуминовыми кислотами почв Западной части территории Тувы //Вестник Оренбургского государственного университета. 2014. №. 6 (167).
- Бамбалов Н. Н., Лукошко Е. С., Смычник Т. П., Хоружик А. В. Особенности молекулярной структуры гуминовых кислот торфов различного ботанического состава // Теория действия физиологически активных веществ / Труды Днепропетровск. с.-х. ин-та. Т. 8. — Днепропетровск, 1983. С. 20–23.

- Белозерская Т.А. Гидрофобины грибов: структура и функции [Текст] / Т.А. Белозерская // Микология и фитопатология. 2001. Т. 35. № 1. С. 3–11.
- Биологический энциклопедический словарь / Гл. ред. М.С. Гиляров; Редкол.: А. А. Баев, Г. Г. Винберг, Г. А. Заварзин и др. — М.: Сов. энциклопедия, 1986. С. 831.
- Богородская Л.И. Кероген: методы изучения, геохимическая интерпретация [Текст] / Л.И. Богородская, А.Э. Конторович, А.И. Ларичев. — Новосибирск, Изд-во СО РАН, филиал «Гео», 2005. С. 254.
- Боровиков В. П., Боровиков И. П. Statistica. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows // М.: Информационно-издательский дом «Филинъ», 1997. С. 608.
- Бриттон Г. Биохимия природных пигментов [Текст] / Г. Бриттон / Пер. с англ. — М.: Мир, 1986. С. 422.
- Брэдфильд Р. Новейшие исследования в области почвенных коллоидов и значение их для классификации почв// Почвоведение. 1936. № 3. С. 382–390.
- Бушнев Д. А. Химическая структура керогена [Текст] / Д.А. Бушнев, Н.С. Бурдельная // Вестник института геологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. – 2010. – Вып. № 9. – Т. 189. С. 2.
- Ваксман С. Исследования по разложению органических веществ и образованию гумуса почв // Почвоведение. 1936. № 1. С. 145–146.
- Ваксман С.А. Гумус, Происхождение, химический состав и значение его в природе. — М.: Сельхозгиз, 1937. С. 471.
- Возбуцкая А. Е. Химия почв/ Изд-ние 3-е, испр. и доп./ Под ред. Д. Л. Аскинази/ Учебное пособие. — М: Высшая школа, 1968. С. 427.
- Войтович Н. В., Сандухадзе Б. И., Чумаченко И. Н., Капранов В. Н. Плодородие, удобрение, сорт и качество продукции зерновых культур в Нечерноземной зоне России. — М.: ЦИНАО, 2002. С. 196.
- Вольнова А. И., Мирчинк Т. Г. Образование почвенными грибами пигмента, сходного с фракцией гуминовой кислоты Р-типа// Вестник Моск. ун-та. 1972. Серия 6. Биол., Почвоведение. № 2. С. 64–67.

- Гамаюнов Н. И. К теории ионного обмена и электрокинетических явлений в торфе// Физико-химические свойства торфа. — Калинин, 1974. С. 4–31.
- Гедройц К. К. Коллоидная химия в вопросах почвоведения. 1. Коллоидные вещества в почвенном растворе. Образование соды в почве. Щелочные солонцы и солончаки// Журнал опытной агрономии. 1912. Т. 13. Кн. 3. С. 363–420.
- Геммерлинг В. В. Опыт характеристики гумусовых веществ почвы на основании их коллоидно-химических свойств// Учён. записки Моск. ун-та. 1952. Вып. 141. С. 15–36.
- Горбов С. Н., Безуглова О. С. Свойства гуминовых кислот почв Урбанизированных территорий (на примере г. Ростов-на-Дону) //Научный журнал Российского НИИ проблем мелиорации. 2013. №. 2. С. 89–103.
- Горбунов Н. И. Почвенные коллоиды и их значение для плодородия. — М.: Наука, 1967. С. 160.
- Гришина Л. А. Гумусообразование и гумусное состояние почв. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1986.
- Гришина Л. А., Орлов Д. С. Система показателей гумусного состояния почв// Проблемы почвоведения/ Советские почвоведы к 6-му Междунар. конгрессу почвоведов в Канаде, 1978 г. — М.: Наука, 1978. С. 42–47.
- Данильчик Н. И. Изучение условий образования, химических свойств и биологической активности меланинового пигмента *Azotobacter chroococcum*/ Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — Вильнюс: Вильнюсский гос. ун-т, 1972. С. 18.
- Дзержинская И. С. Особенности процесса деструкции некоторых форм лигнина в условиях повышенной микробиологической активности// Гуминовые вещества в биосфере/ Биологические науки/ Научн. докл. высш. школы. — М., 1991. № 10 (334). С. 37–43.
- Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): Учебник для студ./ Изд-е 4-е, перераб. и доп. — М.: Колос, 1979. С. 416.

- Жигунов А. В., Симаков В. Н. Состав и свойства гуминовых кислот, выделенных из разлагающихся растительных остатков// Почвоведение. 1977. № 12. С. 59–65.
- Зайдельман Ф. Р., Данилова Г. А. Влияние глееобразования на содержание липидов, хлорофилла, зеленого пигмента и углеводов в дерново-подзолистых почвах // Науч. докл. высш. школы: Биол. науки, 1989. № 3. С. 101–105.
- Звягинцев Д. Г. Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых ее показателей // Почвоведение. 1978. № 6. С. 48–54.
- Звягинцев Д. Г., Мирчинк Т. Г. О природе гуминовых кислот почв // Почвоведение. 1986. № 5. С. 68–75.
- Казеев К. Ш., Колесников С. И., Вальков В. Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. — Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 2003. С. 204.
- Кащенко А. С. К вопросу о генетическом единстве гуминовых и фульвокислот в дерново-подзолистой почве // Записки Ленингр. с.-х. ин-та. Л.-Пушкин, 1962. Т. 84. С. 7–10.
- Колесников Б.А. Получение поверхностно-активных белков из глубинной культуры гриба *Trichoderma viride* [Текст] / Б.А. Колесников, И.В. Ларионов, М.М. Шамцян // Известия С.-Петерб. гос. технологич. ин-та (технич. ун-та). — 2014. № 25 С. 47–50.
- Кольман Я., Рем К. Г. Наглядная биохимия. — М.: Мир, 2000. С. 470.
- Кононова М. М. Органическое вещество почвы, его природа, свойства и методы изучения. — М.: Изд-во АН СССР, 1963.
- Кононова М. М., Бельчикова Н. П. Опыт характеристики природы почвенных гуминовых кислот с помощью спектрофотометрии// Доклады АН СССР. 1950. Т. 72. № 1. С. 125–128.
- Кононова М. М., Бельчикова Н. П. Ускоренные методы определения состава гумуса минеральных почв // Почвоведение. 1961. № 10. С. 75–88.
- Кретович В. Л. Биохимия растений. М.: Высш. шк., 1980. С. 445.

- Крупский Н. К., Лактионов Н. И. К вопросу о коллоидно-химических исследованиях гумуса чернозема как дисперсной системы// Труды Укр. НИИ почвоведения. 1959. Т. 4. С. 109–119.
- Купревич В. Ф. Почвенная энзимология / Научные труды в четырёх томах. Т. 4. — Минск: Наука и техника, 1974. С. 404.
- Купревич В. Ф., Щербакова Т. А. Почвенная энзимология. — Минск: Наука и техника, 1966. С. 275.
- Лактионов Н. И. Гуматная часть почвенного поглощающего комплекса: Лекция. — Харьков: Изд-во Харьковск. с.-х. ин-та им. В. В. Докучаева, 1980. С. 27.
- Лиштван И. И., Круглицкий Н. Н., Третинник В. Ю. Физико-химическая механика гуминовых веществ. — Минск: Наука и техника, 1976. С. 262.
- Лунёва А. С. Гумусное состояние и коллоидно-химические свойства гуминовых веществ почв Европейской части СНГ, развитых на карбонатных породах/ Автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук. — СПб.-Пушкин, 2005. С. 18.
- Лях С. П. Микробный меланиногенез и его функции. — М.: Наука, 1981. С. 274.
- Манская С. М., Кодина Л. А. Геохимия лигнина. М.: Наука, 1975. С. 232.
- Манылова Л. П. Влияние способов углубления пахотного слоя почвы на её биологическую активность// Труды Пермск. с.-х. ин-та. — Пермь, 1980. Т. 139. С. 27–32.
- Маттсон С. Э. Почвенные коллоиды. Сборник главнейших работ С. Маттсона/ Пер. с англ. — М.: Огиз Сельхозгиз, 1938. С. 432.
- Малама А. А., Храменко Г. Б., Орлов Д. С., Юхнин А. А. Элементный состав и инфракрасные спектры меланиновых пигментов некоторых микроорганизмов// Известия АН СССР. 1975. Серия биол. № 5. С. 766–768.
- Милановский Е. Ю., Шеин Е. В., Степанов А. А. Лиофильно-лиофобные свойства органического вещества и структуры почвы// Почвоведение. 1993. № 6. С. 122–126.
- Мишустин Е. Н., Драгунов С. С., Пушкинская О. И. Роль микроорганизмов в синтезе перегнойных соединений// Известия АН СССР. 1956. Серия биол. № 6. С. 83–94.

- Москва В. В. Понятие кислоты и основания в органической химии //Соросовский образовательный журнал. 1996. №. 12. С. 32–40.
- Мусил Я., Новакова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах / Пер. с англ./ 2-е изд., исправл. — М.: Мир, 1984. С. 216.
- Назарова А. В. Сравнительная характеристика гуминовых кислот различного происхождения/ Автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук. — Л., 1977.
- Орлов Д. С. Особенности спектров поглощения и распространение гуминовых кислот Р-типа в почвах СССР.// Почвоведение. 1968, № 10.
- Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1974.
- Орлов Д. С. Химия почв: Учебник. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1985.
- Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1990.
- Орлов Д.С. Химия почв. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1992.
- Орлов Д. С. Почвенные фульвокислоты: история их изучения, значение и реальность// Почвоведение. 1999. № 9. С. 1165–1171.
- Орлов Д. С., Бирюкова О. Н., Суханова Н. И. Органическое вещество почв Российской Федерации. — М.: Наука, 1996. С. 254.
- Орлов Д. С., Бирюкова О. Н., Розанова М. С. Дополнительные показатели гумусного состояния почв и их горизонтов // Почвоведение. 2004. №8. С. 918–926.
- Орлов Д. С., Бирюкова О. Н. Система показателей гумусного состояния почв //Методы исследований органического вещества почв: сб. ст./Всерос. науч.-исслед., конструкт. и проект.-технол. ин-т орган. удобрений и торфа. 2005. С. 6–17.
- Орлова Н. Е., Бакина Л. Г., Орлова Е. Е. Методы изучения содержания и состава гумуса. — СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2007. С. 145.
- Перминова И. В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот / Автореф. дисс. ... доктора химич. наук. М.: Моск. гос. ун-т, 2000. С. 50.
- Попов А. И. Гуминовые вещества: свойства, строение, образование/ Под ред. Е. И. Ермакова. — СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004.

- Попов А. И., Чертов О. Г. О трофической функции органического вещества почв// Вестник С.-Петерб. ун-та. 1993. Серия биол. Вып. 3. № 17. С. 100–109.
- Попов А. И., Бурак А. Ю. Коллоидно-химические свойства гуминовых веществ// Гумус и почвообразование/ Сб. научн. трудов С.-Петерб. гос. аграрн. ун-та. — СПб., 1998. С. 26–30.
- Попов А. И., Игамбердиев В. М., Алексеев Ю. В. Статистическая обработка экспериментальных данных: Методическое пособие. — СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2009.
- Паников Н. С., Садовникова Л. К., Фридланд Е. Н. Неспецифические соединения почвенного гумуса. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1984.
- Плотникова Т. А. Испытание растворов NaOH разной концентрации при извлечении гумусовых веществ из почв// Почвоведение. 1971. № 11. С. 58–69.
- Пономарёва В. В., Плотникова Т. А. Методика и некоторые результаты фракционирования гумуса черноземов // Почвоведение. 1968. № 11.
- Пономарёва В. В., Плотникова Т. А. Миграционная и седиментационная способность черных и бурых гуминовых кислот и их соединений с кальцием // Проблемы почвоведения/ Советские почвоведы к XI Международному конгрессу почвоведов в Канаде, 1978 г. — М.: Наука, 1978. С. 65–72.
- Пономарёва В. В., Плотникова Т. А. Гумус и почвообразование (методы и результаты изучения). — Л.: Наука, 1980.
- Растворова О. Г., Андреев Д.П., Гагарина Э. И., Фёдорова Н.Н. Химический анализ почв. — СПб. : Изд-во С.-Петерб. ун-та, 1995.
- Ремезов Н. П. Почвенные коллоиды и поглощательная способность почв. — М.: Сельхозгиз (Гос. изд-во. с.-х.. лит-ры), 1957. С. 224.
- Саиз-Гименез С., Мартин Ф. Химическая структура гумусоподобного пигмента// Известия АН СССР. 1979. Серия биол. № 1. С. 59–64.
- Сарканен К. В., Людвиг К. Х., Хергер Г. В. Понятие о лигнине, его номенклатура и классификация// Лигнины (структура, свойства и

- реакции)/ Под ред. К. В. Сарканена и К. Х. Людвиг/ Пер. с англ. — М.: Лесная пром-ть, 1975. С. 9–18.
- Семёнова Н.К. Метод выделения гумусовых кислот из кислых почвенных вытяжек (декальцинатов)// Химия гумусовых кислот, их роль в природе и перспективы использования в народном хозяйстве / Тез. докл. конф. — Тюмень, 1981. С. 17.
- Слесарев В. И. Химия: Основы химии живого: Учебник для вузов. — 2-е изд., испр. и доп. — СПб: Химиздат, 2001. С. 784.
- Соколовский А. Н. Из области явлений, связанных с коллоидной частью почвы// Известия Петровск. с.-х. акад. 1919. Вып. 1–4.
- Спозито Г. Термодинамика почвенных растворов/ Пер. с англ. — Л.: Гидрометеиздат, 1984. С. 340.
- Тейт III Р. Органическое вещество почвы: Биологические и экологические аспекты / Пер. с англ. — М.: Мир, 1991. С. 400.
- Тюрин И. В. Органическое вещество почв и его роль в плодородии. — М.: Наука, 1965.
- Умаров М. М., Асеева И. В. Свободные аминокислоты в некоторых почвах СССР// Почвоведение. 1971. № 10.
- Фиалков Ю. Я. Не только в воде. 2-е изд., перераб. и доп. (Вопросы современной химии). — Л.: Химия, 1989. С. 88.
- Фридланд Е. В. Липидная (растворимая в спиртобензоле) фракция органического вещества различных почв// Почвоведение. 1976. № 10.
- Фридрихсберг Д. А. Курс коллоидной химии/ Учеб. для вузов/ 2-е изд., перераб. и доп. — Л.: Химия, 1984. С. 368.
- Фролов Ю. Г. Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы/ Учебник для вузов/ 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Химия, 1988. С. 464.
- Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005.
- Хан Д. В. Органо-минеральные соединения и структура почвы. — М.: Наука, 1969. С. 142.



- Храменко Г. Б. Изучение меланиновых пигментов в бурых актиномицетах/ Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Минск: Белорусский гос. ун-т, 1975. С. 18.
- Цыплёнков В. П., Попов А. И. Колориметрическое определение органического углерода в растворах// Вестник Ленингр. ун-та. 1979. Серия биол. Вып. 4. № 21.
- Чухров Ф. В. Коллоиды в земной коре. — М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1936. 139 с.
- Шинкарев А. А., Гиниятуллин К. Г., Мельников Л. В., Гневашев С. Г. Использование непрерывно изменяющегося градиента концентраций при фракционировании гумусовых веществ методом последовательного растворения // Тез. докл. 3-го съезда Докучаевского общества почвоведов (11–15 июля 2000 г., Суздаль). Т. 1. — М., 2000. С. 319.
- Ширшова Л. Т. Полидисперсность гумусовых веществ почв. — М.: Наука, 1991. С. 85.
- Щербакова Т. А. Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества (в естественных и искусственных фитоценозах). — Минск: Наука и техника, 1983. С. 222.
- Beyer L. The chemical composition of soil organic matter in classical humic compound fractions and in bulk samples — a review// Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 1996. Bd. 159.
- Brady N. C., Weil R. R. The Nature and Properties of Soils/ 13th ed. — New Jersey 07458: Upper Saddle River, 2002.
- Bremner J. M. Studies on soil humic acids. 1. The chemical nature of humic nitrogen// J. Agr. Sci. 1955. V. 46. Part 2. P. 247–256.
- Cook R. L., Langford C. H. A Biogeopolymeric View of HS with Application to Paramagnetic Metal Effects on <sup>13</sup>C NMR// Understanding HS. Advanced Methods, Properties and Applications/ Eds. E. A. Ghabbour and G. Davies. — Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1999. P. 31–48.
- Flaig W. Organic compounds in soil// Soil. Sci. 1971. V. 111. No 1. P. 19–33.
- Flaig W. Generation of Model Chemical Precursors// HS and Their Role in the Environment/ S. Bernhard. Dahlem Konferenzen/ Eds. F. H. Frimmel and R. F. Christman. — John Wiley & Sons Limited, 1988. P. 75–92.

- Greenland D. J., Oades J. M. Saccharides // Soil components/ Ed. J. E. Gieseking. — New York, Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag, 1975. P. 213–262.
- Hatcher P. G., van der Hart D. L., Earl W. L. Use of solid-state  $^{13}\text{C}$ -NMR in structural studies of humic acids and humin from Holocene sediments// Org. Geochem. 1980. V. 2. P. 87–92.
- Hoyt P. Fate of chlorophyll in soil // Soil Science. 1971. V. 111. No 1. P. 49–53.
- Kleber M., Lehmann J. Humic Substances Extracted by Alkali Are Invalid Proxies for the Dynamics and Functions of Organic Matter in Terrestrial and Aquatic Ecosystems // Journal of Environmental Quality 2019. V. 48. Is. 2. P. 207–216.
- Kowalenko C. G. Organic nitrogen, phosphorus and sulfur in soils// Soil Organic matter/ Development of Soil Sci. No 8/ Eds. M. Schnitzer and S. U. Khan. — Ottawa, 1978. P. 95–136.
- Kumada K., Hurst H. M. Green humic acid and its possible origin as a fungal metabolite // Nature. 1967. V. 214. P. 631–633.
- Lehmann, J., and M. Kleber. 2015. The contentious nature of soil organic matter. Nature 528. P. 60–68.
- Lowe L. E. Carbohydrates in soil// Soil Organic Matter/ Eds. M. Schnitzer and S. U. Kahn. — Amsterdam, Oxford, New York: Elsevier, 1978. P. 65–93.
- Martin J. P., Haider K. Microbial Activity in Relation to Soil Humus Formation// Soil Sci. 1971. V. 111. No 1. P. 54–63.
- Müller-Wegener U. Interaction of Humic Substances with Biota// Humic Substances and Their Role in the Environment/ S. Bernhard. Dahlem Konferenzen/ Eds. F. H. Frimmel and R. F. Christman. — John Wiley & Sons Limited, 1988. P. 179–192.
- Nichols K.A. Characterization of glomalin, a glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungi [Text] / K.A. Nichols / Dissertation ... for the degree of Doctor of Philosophy. 2003. P. 285.
- Ogner G. The complexity of forest soil carbohydrates as demonstrated by 27 different O-methyl monosaccharides, 10 previously unknown in nature// Soil Sci. 1980. V. 129. No 1. P. 1–4.
- Popov A. I. On settlement of humic acids in strong acid solutions// HS Downunder: Understanding and managing organic matter in soils, sediments and water/ To

- Advance the Knowledge, Research and Applications of HS/ Abstracts & Program/ The 9th Int. Meeting of the IHSS (20-25 September 1998, Adelaide, Australia). — Adelaide, Australia: IHSS, 1998. P. 186.
- Rillig M.C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin and soil quality [Text] / M.C. Rillig // Canadian Journal of Soil Science. 2004. V. 84. P. 355–363.
- Rochus W. Ultrafiltration as a new method for characterizing humic acids in peat// Recent Technol/ Use Peat/ Reports Int. Symp (Bad Zwischenahn, Nov. 5–8, 1979). — Stuttgart, 1983. P. 69–70.
- Sanger J. E. Identification and Quantitative Measurement of Plant Pigments in Soil Humus Layers [Text] / J. E. Sanger J.E. // Ecology. 1971. V. 52. No 6. P. 959–963.
- Schindler F.V. Chemical characteristics of glomalin-related soil protein (GRSP) extracted from soils of varying organic matter content [Text] / F.V. Schindler, E.J. Mercer, J.A. Rice // Soil Biology and Biochemistry. 2007. V. 39. Is. 1. P. 320–329.
- Steelink C. What is Humic Acid? A Perspective of the Past Forty Years// Understanding HS. Advanced Methods, Properties and Applications/ Edited by E. A. Ghabbour and G. Davies. — Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1999. P. 1–8.
- Steinberg P.D. Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalin / P.D. Steinberg, M.C. Rillig. // Soil Biol. Biochem. 2003. V. 35. P. 191–194.
- Stevenson F. J. Humus Chemistry. — New York: John Wiley & Sons, 1982. 443 p.
- Swift R. S. Organic Matter Characterization// Methods of Soil Analysis/ Part 3. Chemical Methods/ SSSA Book Series no. 5. — Madison, Segoe Rd: SSSA and ASA, 1996. P. 1011–1069.
- Tombácz E., Rice J. A. Changes of Colloidal State in Aqueous Systems of Humic Acids// Understanding HS. Advanced Methods, Properties and Applications/ Edited by E. A. Ghabbour and G. Davies. — Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1999. P. 69–78.

- Wershaw, R.L. 2000. The study of humic substances: In search of a paradigm. In: E.A. Ghabbour and G. Davies, editors, Humic substances: Versatile components of plants, soil, and water. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. p. 1–7.
- Wösten H.A.B. Hydrophobins, the fungal coat unraveled [Text] / H.A.B. Wösten, M.L. de Vocht // Biochim. Biophys. Acta. 2000. V. 1469. P. 79–86.
- Wösten H.A.B. Interfacial selfassembly of a fungal hydrophobin into a hydrophobic rodlet layer [Text] / H.A.B. Wösten, O.M.H. de Vries, J.G.H. Wessels // Plant Cell. 1993. V. 5. P. 1567–1574.
- Wright S.F. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi [Text] / S.F. Wright, A. Upadhyaya // Plant and soil. 1998. V. 198. No. 1. P. 97–107.

## Приложение

**Таблица 1. Содержание углерода во фракциях гуминовых веществ, выделенных щелочным пирофосфатным раствором.**

Горизонт	Водородный показатель фракций гуминовых веществ						
	1	3	5	7	9	11	13
AY (сп)	63,3	1,2	10,2	12,1	21,1	18,5	17,5
AEL (сп)	33,2	0,9	2,7	2,4	19,0	16,4	29,9
AU1 (тсп)	40,8	0,5	7,7	3,7	19,8	35,8	16,2
AU2 (тсп)	23,9	1,0	3,4	3,4	18,4	20,5	14,3
BEL[hh] (тсп)	19,4	0,7	3,2	2,1	17,5	21,9	36,2
AU1 (чмм)	33,4	1,5	1,9	2,9	21,7	20,6	18,6
AU2 (чмм)	21,3	2,5	3,4	8,5	19,8	16,7	26,0
PU1 (ачмм)	28,3	1,0	0,5	0,5	26,9	14,3	15,3
PU2 (ачмм)	21,5	0,5	0,6	0,3	17,6	26,5	15,2
F <sub>факт.</sub>	48,56	78,48	134,26	28,24	6,12	26,20	36,98
F <sub>05</sub>	2,51	2,51	2,51	2,51	2,51	2,51	2,51
HCP <sub>05</sub>	5,87	0,21	0,82	4,69	3,49	3,79	3,82
Среднее	31,68	1,08	3,72	26,17	20,19	21,24	21,02
Sx	4,59	0,21	1,07	2,80	0,97	2,18	2,61
V, %	43,5	58,4	86,2	32,1	14,4	30,8	37,2
P, %	14,5	19,5	28,7	10,7	4,8	10,3	12,4
t*Sx	10,61	0,49	2,47	6,46	2,24	5,03	6,02
s <sup>2</sup>	189,74	0,40	10,27	70,39	8,47	42,75	61,12
s	13,77	0,63	3,20	8,39	2,91	6,54	7,82
F <sub>факт.</sub>	49,50						
F <sub>05</sub>	1,45						
HCP <sub>05</sub>	5,0						

Примечания: здесь и далее Sx — ошибка выборочной средней; V, % — коэффициент варьирования; P, % — относительная ошибка выборочной средней; t\*Sx — доверительный интервал; s<sup>2</sup> — дисперсия; s — стандартное отклонение.

**Таблица 2. Содержание углерода во фракциях гуминовых веществ, выделенных растворителем на основе ацетона.**

Горизонт	Водородный показатель фракций гуминовых веществ						
	1	3	5	7	9	11	13
AY (сп)	Нет	Нет	Нет	16,8	23,2	25,4	39,4
AEL (сп)	Нет	Нет	Нет	15,8	23,8	24,6	35,4
AU1 (тсп)	Нет	Нет	Нет	17,6	23,0	26,6	33,6
AU2 (тсп)	Нет	Нет	Нет	15,8	22,4	31,8	75,0
BEL[hh] (тсп)	Нет	Нет	Нет	16,4	23,0	28,0	37,6
AU1 (чмм)	Нет	Нет	Нет	16,8	23,2	25,4	39,4
AU2 (чмм)	Нет	Нет	Нет	15,8	23,8	24,6	35,4
PU1 (ачмм)	Нет	Нет	Нет	18,2	23,4	26,2	38,4
PU2 (ачмм)	Нет	Нет	Нет	14,0	20,0	26,2	38,0
F <sub>факт.</sub>	—	—	—	3,83	1,23	2,20	27,22
F <sub>05</sub>	—	—	—	2,51	2,51	2,51	2,51
HCP <sub>05</sub>	—	—	—	1,5	—	—	3,67
Среднее	Нет	Нет	Нет	16,8	23,1	26,2	40,4
Sx	—	—	—	0,4	0,386	0,7	4,26
V, %	—	—	—	7,4	5,1	8,4	30,9
P, %	—	—	—	2,5	1,7	2,8	10,3
t*Sx	—	—	—	0,9	0,891	1,7	9,8
s <sup>2</sup>	—	—	—	1,48	1,34000	5,02	163,10
s	—	—	—	1,22	1,1576	2,24	12,77
F <sub>факт.</sub>	3,24						
F <sub>05</sub>	1,56						
HCP <sub>05</sub>	8,6						

**Таблица 3. Коэффициенты цветности фракций гуминовых веществ, выделенных щелочным пирофосфатным раствором.**

Горизонт	Водородный показатель фракций гуминовых веществ						
	1	3	5	7	9	11	13
AY (сп)	2,779	4,300	3,681	4,012	3,524	3,008	3,667
AEL (сп)	2,486	2,667	4,200	3,591	3,315	2,571	3,176
AU1 (тсп)	3,133	3,154	3,376	3,713	3,931	3,383	3,160
AU2 (тсп)	3,000	2,875	3,320	3,805	3,372	3,023	5,500
BEL[hh] (тсп)	2,583	3,000	2,857	3,434	3,347	2,924	3,833
AU1 (чмм)	3,118	3,000	3,905	3,204	3,103	3,025	3,286
AU2 (чмм)	3,154	5,333	4,250	3,290	3,235	3,018	5,000
PU1 (ачмм)	2,300	2,600	6,000	3,310	3,194	3,304	2,816
PU2 (ачмм)	2,833	2,538	4,000	3,368	3,161	3,127	3,211
F <sub>факт.</sub>	14,37	91,10	58,30	7,11	6,68	6,93	68,21
F <sub>05</sub>	2,51	2,51	2,51	2,51	2,51	2,51	2,51
HCP <sub>05</sub>	0,243	0,291	0,347	0,303	0,288	0,262	0,329
Среднее	2,821	3,274	3,954	3,525	3,354	3,043	3,739
Sx	0,103	0,311	0,297	0,091	0,084	0,077	0,305
V, %	11,0	28,5	22,5	7,7	7,5	7,6	24,5
P, %	3,7	9,5	7,5	2,6	2,5	2,5	8,2
t*Sx	0,239	0,719	0,686	0,210	0,193	0,179	0,704
s <sup>2</sup>	0,09634	0,87254	0,79409	0,07409	0,06297	0,05379	0,83667
s	0,3104	0,9341	0,8911	0,2722	0,2509	0,2319	0,9147
F <sub>факт.</sub>	8,76						
F <sub>05</sub>	1,45						
HCP <sub>05</sub>	0,665						

**Таблица 4. Коэффициенты цветности фракций гуминовых веществ, выделенных растворителем на основе ацетона.**

Горизонт	Водородный показатель фракций гуминовых веществ						
	1	3	5	7	9	11	13
AY (сп)	Нет	Нет	Нет	7,792	4,521	3,607	2,620
AEL (сп)	Нет	Нет	Нет	6,191	4,579	3,512	2,729
AU1 (тсп)	Нет	Нет	Нет	6,824	4,144	3,062	2,756
AU2 (тсп)	Нет	Нет	Нет	7,021	4,209	2,889	3,407
BEL[hh] (тсп)	Нет	Нет	Нет	7,781	4,573	3,208	3,333
AU1 (чмм)	Нет	Нет	Нет	7,465	4,177	3,125	2,623
AU2 (чмм)	Нет	Нет	Нет	9,522	5,047	4,284	3,147
PU1 (ачмм)	Нет	Нет	Нет	5,488	3,896	2,800	2,150
PU2 (ачмм)	Нет	Нет	Нет	7,775	4,873	3,573	2,208
F <sub>факт.</sub>	—	—	—	28,72	8,32	22,24	30,69
F <sub>05</sub>	—	—	—	2,51	2,51	2,51	2,51
HCP <sub>05</sub>	—	—	—	0,634	0,382	0,289	0,241
Среднее	Нет	Нет	Нет	7,318	4,446	3,340	2,775
Sx	—	—	—	0,381	0,124	0,153	0,150
V, %	—	—	—	15,6	8,4	13,7	16,2
P, %	—	—	—	5,2	2,8	4,6	5,4
t*Sx	—	—	—	0,881	0,286	0,353	0,346
s <sup>2</sup>	—	—	—	1,30980	0,13815	0,21028	0,20136
s	—	—	—	1,1445	0,3717	0,4586	0,4487
F <sub>факт.</sub>	—	—	—	125,25			
F <sub>05</sub>	—	—	—	1,56			
HCP <sub>05</sub>	—	—	—	0,475			



**Таблица 5. Значения коэффициентов экстинкции фракций гуминовых веществ, выделенных щелочным пирофосфатным раствором.**

Горизонт	Водородный показатель фракций гуминовых веществ						
	1	3	5	7	9	11	13
AY (сп)	0,002	0,037	0,117	0,112	0,089	0,028	0,006
AEL (сп)	0,011	0,029	0,007	0,178	0,153	0,117	0,007
AU1 (тсп)	0,013	0,081	0,125	0,146	0,107	0,064	0,049
AU2 (тсп)	0,007	0,023	0,144	0,197	0,116	0,017	0,004
BEL[hh] (тсп)	0,011	0,022	0,007	0,258	0,150	0,054	0,005
AU1 (чмм)	0,007	0,018	0,041	0,239	0,184	0,077	0,020
AU2 (чмм)	0,007	0,007	0,014	0,190	0,172	0,051	0,003
PU1 (ачмм)	0,010	0,026	0,048	0,159	0,128	0,065	0,016
PU2 (ачмм)	0,003	0,065	0,065	0,163	0,178	0,036	0,010
F <sub>факт.</sub>	229,34	410,84	523,09	70,30	64,99	265,92	702,84
F <sub>05</sub>	2,51	2,51	2,51	2,51	2,51	2,51	2,51
HCP <sub>05</sub>	0,001	0,004	0,007	0,016	0,012	0,005	0,002
Среднее	0,008	0,034	0,063	0,182	0,142	0,056	0,013
S <sub>x</sub>	0,001	0,008	0,018	0,015	0,011	0,010	0,005
V, %	47,2	69,4	84,4	24,8	23,7	52,4	109,1
P, %	15,7	23,1	28,1	8,3	7,9	17,5	36,4
t*S <sub>x</sub>	0,003	0,018	0,041	0,035	0,026	0,023	0,011
s <sup>2</sup>	0,00001	0,00056	0,00284	0,00205	0,00113	0,00088	0,00021
s	0,0037	0,0238	0,0533	0,0453	0,0336	0,0297	0,0145
F <sub>факт.</sub>	10,53						
F <sub>05</sub>	1,45						
HCP <sub>05</sub>	0,060						

**Таблица 6. Значения коэффициентов экстинкции фракций гуминовых веществ, выделенных растворителем на основе ацетона.**

Горизонт	Водородный показатель фракций гуминовых веществ						
	1	3	5	7	9	11	13
AУ (сп)	Нет	Нет	Нет	0,041	0,059	0,030	0,012
AEL (сп)	Нет	Нет	Нет	0,034	0,054	0,028	0,017
AU1 (тсп)	Нет	Нет	Нет	0,053	0,065	0,049	0,022
AU2 (тсп)	Нет	Нет	Нет	0,038	0,061	0,042	0,009
BEL[hH] (тсп)	Нет	Нет	Нет	0,029	0,047	0,029	0,011
AU1 (чмм)	Нет	Нет	Нет	0,052	0,071	0,041	0,018
AU2 (чмм)	Нет	Нет	Нет	0,029	0,045	0,027	0,011
PU1 (ачмм)	Нет	Нет	Нет	0,062	0,081	0,037	0,012
PU2 (ачмм)	Нет	Нет	Нет	0,034	0,047	0,027	0,011
F <sub>факт.</sub>	—	—	—	89,10	49,01	62,79	112,38
F <sub>05</sub>	—	—	—	2,51	2,51	2,51	2,51
HCP <sub>05</sub>	—	—	—	0,004	0,005	0,003	0,001
Среднее	Нет	Нет	Нет	0,041	0,059	0,034	0,014
S <sub>x</sub>	—	—	—	0,004	0,004	0,003	0,001
V, %	—	—	—	28,4	20,6	23,4	29,6
P, %	—	—	—	9,5	6,9	7,8	9,4
t*S <sub>x</sub>	—	—	—	0,009	0,009	0,006	0,003
s <sup>2</sup>	—	—	—	0,00014	0,00015	0,00007	0,00002
s	—	—	—	0,0117	0,0121	0,0081	0,0041
F <sub>факт.</sub>	47,67						
F <sub>05</sub>	1,56						
HCP <sub>05</sub>	0,008						